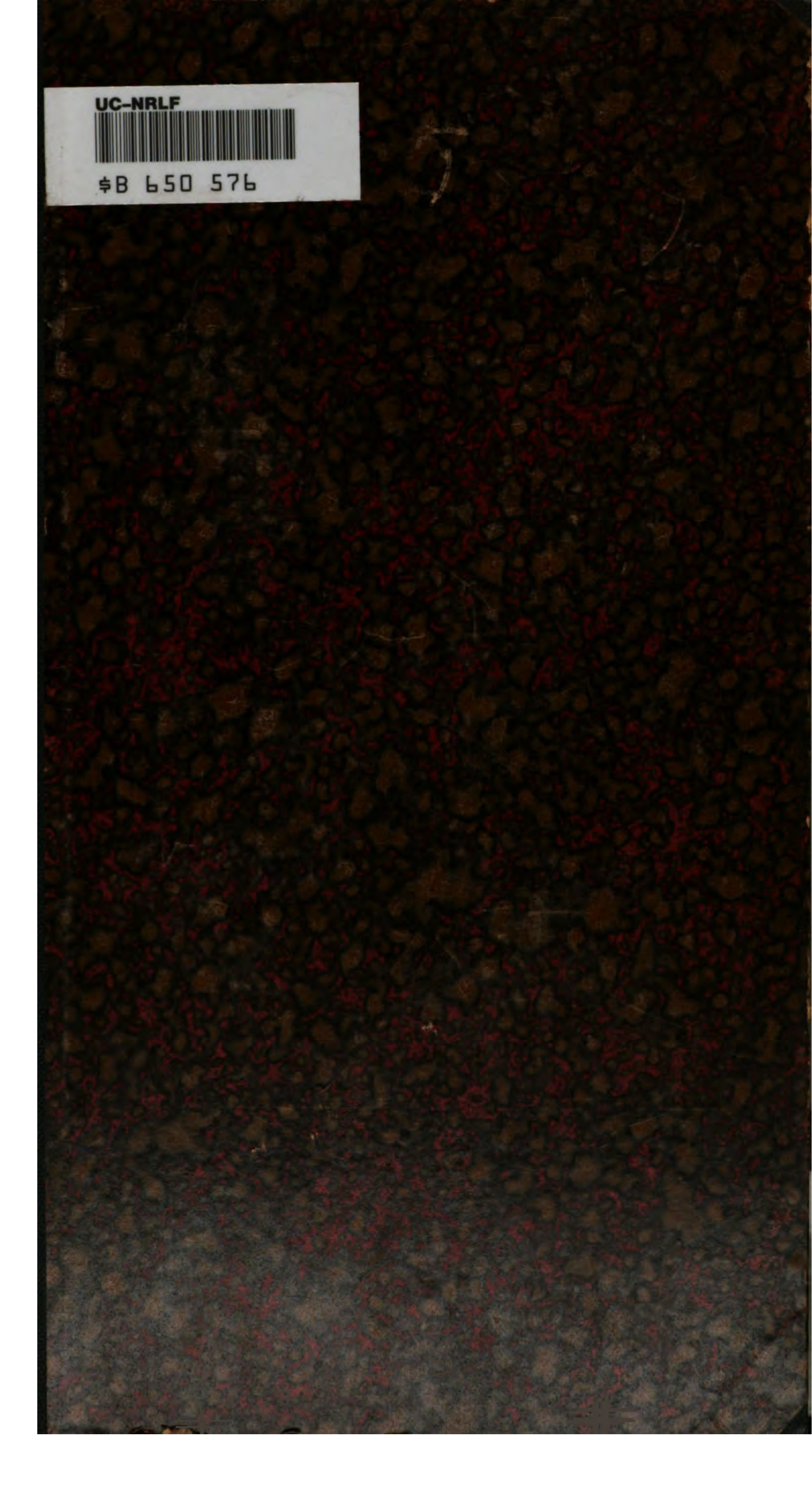
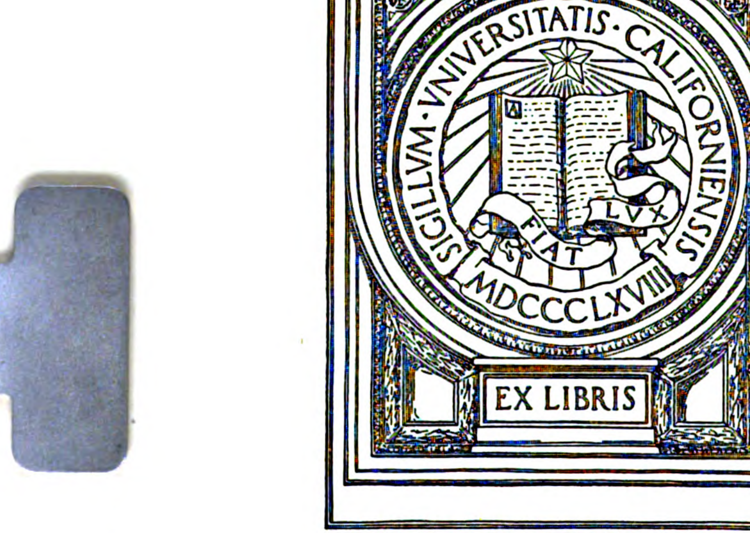
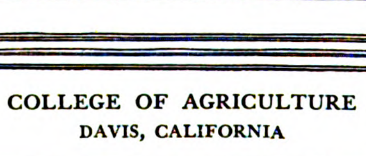



SIGILLVM · UNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS


COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Buchner-Berlin, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. E., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin.

unter Mitwirkung von

L. Asher-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **Chr. Bohr**-Kopenhagen, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Heidelberg, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Berlin, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Zürich, **M. Jacoby**-Heidelberg, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos-Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. von Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-Berkeley, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Königsberg, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Prag, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Röhmann**-Breslau, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **Zd. H. Skraup**-Wien, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechzehnter Band.

Mit 1 Tafel.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1909.

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Die „Biochemische Zeitschrift" hat den Heimgang des Professors

Dimitri Ivanovitsch Kurajeff

zu beklagen, der am 21. November 1908 im 40. Lebensjahre plötzlich verschied.

Kurajeff war am 17. September 1869 als Sohn eines Beamten in einem kleinen Ort des Ufimer-Gouvernements geboren. Nach Beendigung des Gymnasiums studierte er von 1889 bis 1894 an der Militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg. Dann bildete er sich gleichfalls in Petersburg unter Danilewskis Leitung während der Jahre 1894 bis 1896 speziell in der physiologischen Chemie aus und erlangte 1896 mit einer Dissertation „Über die Eiweißkörper der ruhenden und tätigen Muskeln" den medizinischen Doktorgrad.

Die Regierung bewilligte ihm die Mittel für einen zweijährigen Aufenthalt im Auslande, den er zu Studien im Straßburger Laboratorium bei F. Hofmeister und im Marburger Institut bei A. Kossel verwandte. Nach seiner Heimkehr habilitierte er sich 1899 als Privatdozent an der Militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg. 1902 wurde er von dort nach Charkow als Leiter des Physiologisch-chemischen Universitätslaboratoriums berufen und 1907 zum ordentlichen Professor ernannt. Den im folgenden Jahre an ihn ergangenen Ruf als Nachfolger Danilewskis lehnte er ab.

Kurajeff entwickelte in Charkow eine rege Unterrichtstätigkeit, auch nahm er an der Reorganisation des Frauenhochschulstudiums regen Anteil.

Mitten aus voller Wirksamkeit riß ihn der Tod. Während einer Vorlesung verlor er die Besinnung und erlag vier Tage später im besten Mannesalter dem eingetretenen Gehirnschlage.

Seine Arbeiten, die größtenteils in deutscher Sprache erschienen sind, sichern ihm ein bleibendes und ehrenvolles Andenken. Sie betreffen hauptsächlich die Protamine und Jodeiweißkörper; namentlich bleibt sein Name dauernd mit der Plasteinforschung verknüpft.

C. Neuberg.

Studien in der Chlorophyllgruppe III.

Eine neue Abbaumethode in der Chlorophyllchemie.

Von

L. Marchlewski.

(Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium in Krakau.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1908.)

Bekanntlich sind jetzt zwei Methoden des Abbaues der Chlorophylle bekannt. Die eine benutzt die Wirkung der Wasserstoffionen, die andere die der Hydroxylionen. Die erste führt zu den Chlorophyllanen (Phyllogen, Phäophytin) und dann zum Phyllocyanin und Phylloxanthin, die andere zum Alkachlorophyll, aus welchem Phyllotaonin, bzw. Allophyllotaonin erhalten werden kann. Der Unterschied zwischen den beiden Reihen der in dieser Art erhaltenen Körper ist nicht unbedeutend, und die Bestrebungen, einen Übergang von der einen Gruppe zu der anderen zu finden, haben bis jetzt nicht zu ganz sicheren Resultaten geführt. In dieser Beziehung ist nur einer Angabe von E. Schunck zu gedenken, nach welcher Phyllocyanin durch Alkaliwirkung in Phyllotaonin umwandelbar sein soll.

Im nachfolgenden soll eine Methode beschrieben werden, welche in sehr glatter Art es gestattet, von den Säureabbauprodukten des Chlorophylls, bzw. der Chlorophylle zu den Alkaliabbauprodukten überzugehen. Sie stützt sich auf eine Reaktion eines Körpers, welcher überaus interessant ist, und dessen eingehenderes Studium ohne Frage sehr viel zur Aufklärung der chemischen Natur der Chlorophylle beitragen dürfte.

In der ersten Abhandlung dieser Serie von Studien in der Chlorophyllgruppe[1]) wurde ein Körper beschrieben, welcher zu den komplexen Metallsalzverbindungen der Chorophylle zu zählen ist, und welcher auffallend die Eigenschaften der Chloro-

[1]) Diese Zeitschr. 10, 131, 1908.

phylle imitiert, nämlich die Zinkverbindung, welche Chlorophyllan (Phyllogen, Phäophytin) bei der Behandlung seiner alkoholischen Lösung mit Zn $(OH)_2$ und Kohlensäure liefert. Dieselbe wird im Gegensatz zu anderen derartigen Metallverbindungen der Chlorophylle leicht durch schwache Säuren zersetzt unter Abscheidung von Kohlensäure und Regenierung von Chlorophyllan. Dabei verliert sie ihre prächtige grüne Farbe, um der bekannten olivgrünbraunen des Chlorophyllans Platz zu machen. Ich habe nun gefunden, daß der in Rede stehende Körper nicht nur das Verhalten der Chlorophylle zu Säuren imitiert, sondern auch zu Alkalien. Wird nämlich seine alkoholische Lösung mit Kaliumhydrat versetzt, so büßt sie sehr bald ihre prächtige rote Fluorescenz nahezu vollständig ein. Nach längerem Stehen bildet sich ein dunkelgrüner Bodenabsatz in Form von abgegrenzten kugeligen Aggregaten, welcher in Wasser vollständig mit prächtig grüner Farbe löslich ist. Dasselbe Verhalten zeigt die über ihm stehende alkoholische Lösung; nach dem Verdünnen mit Wasser erhält man eine vollständig klare Lösung, aus welcher Äther nur spurenweise einen grünen Farbstoff entzieht, während die Hauptmasse des Farbstoffs in der wässerigen Lösung zurückbleibt. Wird letztere von neuem mit Äther überschüttet und mit Oxalsäure behutsam versetzt, so wird das Kaliumsalz des neuen Farbstoffs zersetzt, die Farbsäure in Freiheit gesetzt und jetzt vom Äther aufgenommen, wobei eine prächtig rot fluorescierende grünblaue Lösung entsteht. Dieser Körper verhält sich durchweg wie Alkachlorophyll und unterscheidet sich von letzterem hauptsächlich dadurch, daß, während das längst bekannte Chlorophyllderivat magnesiumhaltig ist, der neue Körper Zink enthält, und zwar, wie später ausführlich gezeigt werden soll, in nicht unbeträchtlicher Quantität.

Die ätherische Lösung des neuen Körpers hinterläßt beim Verdampfen eine stahlblaue glänzende Masse, welche sehr an das Alkachlorophyll erinnert und welche in Äther und den Alkoholen, sowie in Chloroform ziemlich leicht, in Benzol und Schwefelkohlenstoff sehr schwer auch bei Siedehitze und in Petroläther ganz unlöslich ist.[1])

---

[1]) In welcher Art diese Substanz weiter gereinigt werden kann, soll später angegeben werden.

In spektroskopischer Beziehung erinnert die Substanz ebenfalls an Alkachlorophyll. Ihre ätherische Lösung wird aber bei dem Verdampfen augenscheinlich etwas verändert, da der Abdampfrückstand ein etwas anderes Spektrum zeigt als die ursprüngliche Lösung.

Eine frische ätherische Lösung des Körpers[1]) zeigte bei genügender Verdünnung fünf Bänder. Das erste Band im Rot ist von einem Schatten begleitet. Die 1 mm dicke Schicht der untersuchten Lösung zeigte folgende Winkeldifferenzen im Martens-Königschen Spektralphotometer:

Gelbes Quecksilberlicht der Heräusschen Lampe 69,1°
Grünes „ „ „ „ 60,1°.

Band 1: λ 677—637
Schatten von λ 622 an, sich Band 1 anschließend
Band 2: λ 609—592
„ 3: λ 566—554,5
„ 4: λ 536—534,0
„ 5: λ 506—492,0.

Eine noch weiter verdünnte Lösung, deren photometrische Konstanten durch die Werte 38,5° für Gelb und 33,5° für Grün charakterisiert sind, zeigt zwei ungefähr gleich starke schmale Bänder erkennen, deren Lage den folgenden Wellenlängen entspricht:

Band 1a: λ 676—661
„ 1b: λ 650—643.

Die Bänder im stärker gebrochenen Spektrumteile sind so schwach, daß die Ermittelung ihrer Lage nicht gut möglich ist.

Der Charakter des neuen Körpers wird besonders genau durch das Studium seiner Zersetzungsprodukte unter dem Einfluß konzentrierter Salzsäure bestimmt. Er liefert hierbei nämlich Phyllotaonin, bzw. Allophyllotaonin, resp. Phytorhodine. Der Versuch wurde mit dem oben erwähnten Kaliumsalz des neuen Körpers ausgeführt. Seine Lösung in konzentrierter Salzsäure wurde über Nacht bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen und dann in viel Wasser gegossen. Nach dem Neutralisieren des größten Teiles der Salzsäure wurde der Farbstoff mit Äther

[1]) Als Rohmaterial wurde Brennesselblätter-Chlorophyllan (Phyllogen) benutzt.

extrahiert und die ätherische Lösung der Fraktionierung mit Säuren verschiedener Konzentration unterworfen. Es zeigte sich, daß die Hauptmenge des Farbstoffs von 6 % Salzsäure in Form eines blaugrünen Salzes aufgenommen wurde. Daneben konnte die Anwesenheit von geringen Mengen schwächer basischer Produkte konstatiert werden, nämlich solcher, welche rasch nur von 15 %, bzw. 20 % Säure der ätherischen Lösung entzogen wurden. Letztere brauchen uns hier vorläufig nicht zu interessieren.

Die 6%ige Salzsäurelösung wurde nach dem teilweisen Neutralisieren mit Äther extrahiert. Erhalten wurde hierbei eine olivgrüne Lösung, welche das Spektrum einer Phyllotaoninlösung zeigte. Eine verdünnte Lösung, in 10 mm Schicht untersucht, gab folgende Werte: Winkeldifferenz für Hg-Gelb 35,3°, für Hg-Grün 47,5°.

Band 1: λ 690—650
„ 2: λ 622—602
„ 3: kaum sichtbar
„ 4: λ 538—525
„ 5: λ 511—487.

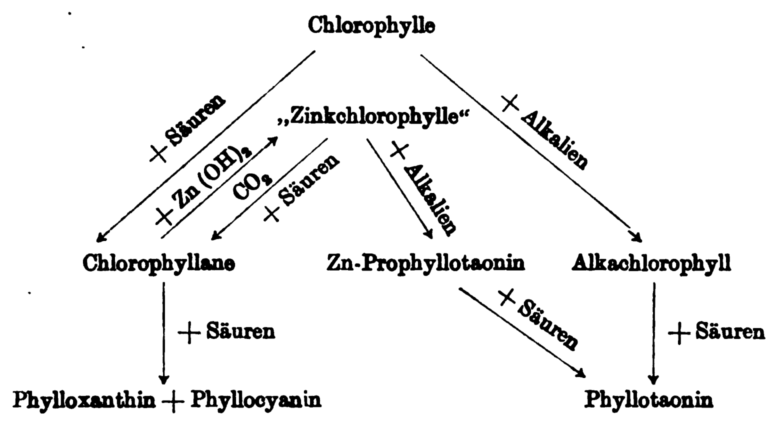
Entscheidend war der folgende Versuch. Wurde die ätherische Lösung eingedampft und der Rückstand in Chloroform gelöst, die Lösung eingedampft und diese Prozedur noch zweimal wiederholt, so wird ein in Äther schwer löslicher Körper erhalten, welcher in Chloroform mit rötlich-brauner Farbe löslich ist und das Spektrum des Allophyllotaonins zeigt. Wird derselbe mit wässeriger verdünnter Natronlauge auf dem Wasserbade erwärmt, die Lösung nach dem Abkühlen angesäuert und ausgeäthert, so erhält man wieder eine ätherische Lösung des Phyllotaonins. Kurz, der in der 6%igen Säurefraktion vorliegende Farbstoff verhält sich genau wie Phyllotaonin nach den Studien von mir mit Koźniewski.[1]) Eine Chloroformlösung dieses Allophyllotaonins, dessen spektrophotometrische Konstanten die folgenden waren: Hg-Blau 82,8°, Hg-Grün 71,15°, Hg-Gelb 63,6° bei 10 mm Schichtendicke zeigte folgende Bänder:

---

[1]) Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1907, 619.

Band 1: λ 712—680
„ 2: λ 652—632
„ 3: λ 556—538
„ 4: λ 516—502
„ 5: λ 490—470.

Die Umwandlung dieses Allophyllotoanins in Phytorhodine unter dem Einfluß von HCl-haltigem Alkohol bei Wasserbadtemperatur findet ebenfalls glatt statt, worauf ich später noch zurückkommen werde. Schließlich muß noch darauf hingewiesen werden, daß diese Muttersubstanz des Phyllotaonins beim Erhitzen mit KOH auf hohe Temperaturen eine rote Substanz gibt, welche schwächer basisch ist als Phylloporphyrin und höchstwahrscheinlich mit dem Alloporphyrin identisch sein wird. Auf diese Angelegenheiten komme ich später noch ausführlich zurück, aber das bereits Gesagte zeigt schlagend, daß der neue hier besprochene Körper tatsächlich durchaus analoge Reaktionen zeigt wie Alkachlorophyll. Seine Bedeutung in der Chlorophyllchemie wird auf den ersten Blick durch die folgende Tabelle erläutert:



In obiger Tabelle wurde der Kürze wegen die komplexe Zinkkohlensäureverbindung der Chlorophyllane „Zinkchlorophyll" benannt, ein Name, der mit den Eigenschaften der Substanz tatsächlich gut harmonisiert, ohne natürlich andeuten zu sollen, daß das natürliche Produkt von dem künstlichen sich nur durch einen Gehalt an Magnesium anstatt Zink unterscheidet.

Das Umwandlungsprodukt dieses Zinkchlorophylls unter dem Einfluß von Alkalien soll als Muttersubstanz des Phyllotaonins mit „Zink-Prophyllotaonin" bezeichnet werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese Substanz von dem Alkachlorophyll sich tatsächlich nur durch den Zinkgehalt unterscheidet, und letztere Substanz wäre dann als „Magnesium-Prophyllotaonin" zu bezeichnen.

Die oben besprochenen Reaktionen machen es also möglich, auf einfache, durchsichtige Art vom Chlorophyllan zum Phyllotaonin zu gelangen. Sie beweisen auch, daß die Art der Verknüpfung des Metalls für die Natur der bei der Säurespaltung entstehenden Produkte ausschlaggebend ist, und endlich, daß die Lehre vom magnesiumhaltigen Chlorophyll auf einem neuen Wege gestützt wird. Wie im Zn-Prophyllotoanin, so muß auch im Alkachlorophyll ein Metall stecken, da anderfalls Phyllotaonin aus ihm nicht entstehen könnte.

Die obigen Reaktionen sollen demnächst an dieser Stelle ausführlich besprochen werden, sowie auch solche, welche sich auf andere Zinkkohlensäureverbindungen von Derivaten der Chlorophylle beziehen, welche in dem hiesigen Laboratorium dargestellt und auch bereits zum Teil beschrieben wurden.

Über den Eisen- und Phosphorgehalt unserer Vegetabilien.

Von

E. Haensel.

(Aus der biochemischen Abteilung des Instituts für experimentelle Therapie zu Düsseldorf.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1908.)

Über die Aschenbestandteile, insbesondere Phosphor und Eisen, der Vegetabilien, wie Gemüse, Obst, Nüsse usw., liegen noch verhältnismäßig wenig Angaben vor. König (Chemie der Nahrungs- und Genußmittel) bezieht sich in der Aufstellung über die Zusammensetzung der Pflanzenaschen hauptsächlich auf Arbeiten von R. Pott und Herapath. Doch auch hier ist die Anzahl der zugrunde liegenden Analysen eine ziemlich geringe; so liegen z. B. für die Asche des Kopfsalates nur drei Analysen vor, für Spinat zwei, für Blumenkohl zwei, für Walnüsse und Mandeln je eine Analyse usw. Neuere Untersuchungen auf Eisen in Nahrungsmitteln verdanken wir G. von Bunge.[1]) Die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen auf Phosphor in Nahrungsmitteln veröffentlichte Balland in seiner Arbeit „Sur la distribution du phosphore dans les aliments."[2])

Auf Anregung von Herrn Dr. Nerking übernahm ich die dankbare Aufgabe, eine große Anzahl unserer vegetabilischen Nahrungsmittel einer genauen Bestimmung des Aschengehaltes auf Eisen und Phosphor zu unterziehen.

Die Aschenbestimmung wurde in der bekannten Weise ausgeführt, daß eine bestimmte Menge der Substanz entweder 5

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 41, 155, 1901. (Der Kalk- und Eisengehalt unserer Nahrung.)

[2]) Journ. de pharm. et de chim. 25, 9. Jan. 1907.

oder 10 g in der Platinschale vorsichtig verascht wurde, die Asche wurde mit destilliertem Wasser befeuchtet, getrocknet, geglüht und gewogen.

Die Bestimmung der Phosphorsäure erfolgte nach der Sonnenscheinschen Methode. Die Substanz wurde verascht, die Asche in Salpetersäure gelöst und mit Wasser aufgenommen. Die Phosphorsäure wurde über die Stufe des Ammoniumphosphormolybdates als Ammoniummagnesiumphosphat gefällt und als pyrophosphorsaures Magnesium bestimmt.

Zur Bestimmung des Eisenoxyds wurde die Asche in Salzsäure gelöst und mit wenig Salpetersäure oxydiert. Die Lösung wurde stark mit destilliertem Wasser verdünnt und durch Zusatz von Natriumkarbonat fast neutralisiert, mit neutralem essigsauren Natrium versetzt, bis ein flockiger Niederschlag entstand, etwas Essigsäure dazugegeben und zum Sieden erhitzt. Der Niederschlag von basisch essigsaurem Eisen wurde heiß filtriert, mit heißem Wasser ausgewaschen und in Salzsäure gelöst. In der salzsäuren Lösung wurde das Eisen mit Ammoniak gefällt und als Fe_2O_3 bestimmt.

Die Resultate meiner Untersuchungen sind in nachstehenden Tabelleu übersichtlich aufgestellt.

Tabelle I gibt die Werte in der natürlichen Substanz an, Tabelle II in der lufttrockenen Substanz. In Tabelle III sind die Untersuchungsergebnisse auf den Aschengehalt der lufttrocknen Substanz berechnet aufgestellt.

Tabelle I.

	Wasser	Trocken-substanz	Asche	Phosphor-säure	Eisenoxyd
			in Prozenten		
Endivien	92,03	7,97	0,9766	0,1012	0,03188
			0,9607	0,1002	0,03188
Kopfsalat	91,91	8,09	1,2377	0,1401	0,05582
			1,3394	0,1148	0,05404
Winterkohl	83,10	16,9	1,5436	0,2004	0,05475
			1,6568	0,2077	0,05577
Spinat	91,93	8,07	1,6559	0,1358	0,03631
			1,6535	0,1354	0,03551
Grüne Bohnen . . .	86,25	13,75	0,8975	0,1480	0,01485
			0,8782	0,1455	0,01430
Gelbe Bohnen . . .	86,25	13,75	0,4950	0,1221	0,00633
(Wachsbohnen)			0,5077	0,1237	0,00687

Tabelle I (Fortsetzung).

	Wasser	Trocken-substanz	Asche	Phosphor-säure	Eisenoxyd
			in Prozenten		
Kohlrabi (Kopf)	87,24	12,76	0,9064 0,9090	0,1370 0,1360	0,00638 0,00612
Kohlrabi (Blätter)	81,56	18,44	1,8840 1,9177	0,1934 0,1881	0,06822 0,07154
Sellerie (Kopf)	86,59	13,41	0,9896 0,9843	0,2261 0,2209	0,01716 0,01663
Sellerie (Blätter)	85,28	14,72	1,8900 1,8606	0,1764 0,1685	0,04003 0,03897
Weißkraut	92,12	7,88	0,5490 0,5579	0,0653 0,0693	0,00284 0,00315
Rotkraut	90,55	9,44	0,6117 0,6098	0,0662 0,0650	0,00207 0,00189
Möhren	86,84	13,16	0,7580 0,7554	0,1000 0,1006	0,01289 0,01316
Blumenkohl	88,18	11,82	0,7635 0,7606	0,1374 0,1377	0,00378 0,00355
Wirsingkohl	86,72	13,26	0,8406 0,8327	0,1001 0,0998	0,00742 0,00769
Rettich	86,33	13,67	0,9432 0,9514	0,1056 1,1059	0,00383 0,00437
Tomaten	93,10	6,40	0,4057 0,4108	0,0576 0,0571	0,00064 0,00076
Zwiebeln	85,82	14,18	0,4792 0,4736	0,1066 0,1059	0,00353 0,00425
Rote Rüben	82,85	17,15	0,8588 0,8698	0,1500 0,1504	0,00858 0,00892
Kartoffeln (Magnum bonum)	79,60	20,40	0,7588 0,7668	0,0952 0,0966	0,01836 0,02162
Kartoffeln (rotschalig)	78,30	21,70	1,0698 1,0658	0,1642 0,1616	0,01172 0,01085
Pfifferling	91,70	8,30	0,8157 0,8142	0,0731 0,0699	0,01112 0,01062
Gelber Hahnenkamm (Ziegenbart)	92,27	7,73	0,4947 0,4993	0,0960 0,0930	0,00294 0,00309
Steinpilz	85,90	14,10	0,7924 0,7839	0,1455 0,1403	0,00169 0,00113
Äpfel	81,62	18,38	0,1746 0,1801	0,0178 0,0192	0,00074 0,00074
Bananen	74,78	15,22	0,3035 0,3165	0,0344 0,0359	0,000304 0,000304
Feigen (getrocknet)	18,24	81,76	2,3546 2,2892	0,1062 0,1022	0,03597 0,03597

Tabelle II.

	Asche	Phosphorsäure in Prozenten	Eisenoxyd
Endivien	12,30 12,10	1,27 1,257	0,400 0,400
Kopfsalat	15,30 15,05	1,7324 1,4187	0,690 0,668
Winterkohl	9,720 9,804	1,1860 1,2293	0,324 0,330
Spinat	20,52 20,49	1,6833 1,6782	0,450 0,440
Grüne Bohnen	5,80 5,60	1,0767 1,0584	0,108 0,104
Gelbe Bohnen (Wachsbohnen)	3,60 3,62	0,8952 0,9003	0,046 0,050
Kohlrabi (Kopf)	7,124 7,100	1,0737 1,0661	0,050 0,048
Kohlrabi (Blätter)	10,22 10,40	0,9947 1,0202	0,370 0,388
Sellerie (Kopf)	7,38 7,34	1,6858 1,6476	0,128 0,124
Sellerie (Blätter)	12,84 12,64	1,1986 1,1477	0,272 0,258
Weißkraut	6,968 7,080	0,8289 0,8798	0,036 0,040
Rotkraut	6,48 6,46	0,7014 0,6890	0,022 0,020
Möhren	5,76 5,74	0,7600 0,7651	0,098 0,100
Blumenkohl	6,46 6,452	1,1630 1,1655	0,032 0,030
Wirsingkohl	6,34 6,28	0,7550 0,7530	0,058 0,056
Rettich	6,90 6,96	0,7728 0,7753	0,028 0,032
Tomaten	6,34 6,42	0,885 0,8926	0,010 0,012
Zwiebeln	3,38 3,34	0,7524 0,7396	0,032 0,030
Rote Rüben	5,008 5,072	0,8748 0,8798	0,050 0,052
Kartoffeln (Magnum bonum)	3,72 3,76	0,4647 0,4896	0,090 0,106
Kartoffeln (rotschalig)	4,93 4,91	0,7567 0,7447	0,054 0,050
Pfifferling	9,828 9,810	0,8798 0,8416	0,134 0,128
Gelber Hahnenkamm (Ziegenbart)	6,40 6,46	0,8926 0,9308	0,038 0,040
Steinpilz	5,62 5,56	1,0329 0,9947	0,012 0,008

Tabelle II (Fortsetzung).

	Asche	Phosphorsäure	Eisenoxyd
		in Prozenten	
Äpfel	0,95	0,0969	0,004
	0,98	0,1045	0,004
Bananen	1,994	0,2244	0,002
	2,080	0,2346	0,002
Feigen	2,88	0,130	0,044
(getrocknet)	2,80	0,125	0,042
Erdnüsse	2,404	1,0151	0,004
	2,408	1,0533	0,006
Haselnüsse	2,23	0,8594	0,012
	2,22	0,8544	0,010
Walnüsse	2,112	0,9896	Spuren
	2,136	1,0150	
Paranüsse	2,870	1,3797	0,016
	2,864	1,3594	0,016
Kokosnüsse	0,956	0,3188	0,008
	0,960	0,3188	0,010
Mandeln	2,836	0,8620	0,010
	2,826	0,8544	0,010

Tabelle III.

Endivien	12,30	10,566	3,2528
	12,10	10,391	3,3060
Kopfsalat	15,30	11,320	4,5100
	15,05	9,426	4,4385
Winterkohl	9,72	12,20	3,3330
	9,804	12,53	3,3360
Spinat	20,52	8,19	2,1937
	20,94	8,19	2,1476
Grüne Bohnen	5,8	18,69	1,8620
	5,66	18,564	1,8374
Gelbe Bohnen	3,60	24,79	1,2770
(Wachsbohnen)	3,62	25,01	1,3813
Kohlrabi	7,124	15,07	0,7018
(Kopf)	7,100	15,06	0,6760
Kohlrabi	10,22	9,73	3,6277
(Blätter)	10,40	9,81	3,6346
Sellerie	7,38	22,44	1,7344
(Kopf)	7,34	22,48	1,6346
Sellerie	12,84	9,335	2,1183
(Blätter)	12,64	9,079	2,0446
Weißkraut	6,968	11,015	0,5166
	7,08	11,895	0,5649
Rotkraut	6,48	10,810	0,3395
	6,46	10,665	0,3096
Möhren	5,76	13,226	1,7361
	5,74	13,281	1,7073

Tabelle III (Fortsetzung).

	Asche	Phosphorsäure	Eisenoxyd
		in Prozenten	
Blumenkohl	6,48	18,034	0,4953
	6,452	18,025	0,4649
Wirsingkohl	6,34	12,054	0,9148
	6,28	11,908	0,8917
Rettich	6,90	11,139	0,4058
	6,96	11,188	0,4590
Tomaten	6,34	13,903	0,1577
	6,42	13,959	0,1867
Zwiebeln	3,38	22,26	0,9467
	3,34	22,14	0,8982
Rote Rüben	5,008	17,346	0,9985
	5,072	17,488	1,0232
Kartoffeln	3,72	12,526	2,4193
(Magnum bonum)	3,76	13,021	2,8191
Kartoffeln	4,93	15,349	1,0953
(rotschalig)	4,91	15,155	1,0181
Pfifferling	9,828	8,954	1,3614
	9,810	8,577	1,3046
Gelber Hahnenkamm	6,40	13,915	0,5935
(Ziegenbart)	6,46	14,241	0,6191
Steinpilz	5,62	18,379	0,2135
	5,56	17,878	0,1439
Äpfel	0,95	10,20	0,4210
	0,98	10,66	0,4082
Bananen	1,944	11,254	0,1003
	2,08	11,278	0,0916
Feigen	2,88	4,51	1,5277
	2,80	4,464	1,5000
Erdnüsse	2,404	43,741	0,1664
	2,408	42,23	0,2492
Haselnüsse	2,23	39,435	0,5381
	2,22	38,489	0,4505
Walnüsse	2,112	46,856	Spuren
	2,136	47,518	
Paranüsse	2,87	48,004	0,5575
	2,868	47,466	0,5579
Kokosnüsse	0,956	33,207	1,0416
	0,960	33,347	0,8370
Mandeln	2,836	30,395	0,3526
	2,826	30,234	0,3538

Es hat sich bei diesen Untersuchungen herausgestellt, daß der Eisengehalt mancher Vegetabilien seither teils überschätzt wurde, zum Teil auch unterschätzt. So ist die vielfach herrschende Ansicht, daß der Spinat die eisenreichste der als Nahrungsmittel dienenden Pflanzen sei, nicht zutreffend. Dieses

beweist ein Vergleich der für Spinat gefundenen Eisenwerte mit dem Eisengehalt des Kopfsalates.

Zur vergleichenden Übersicht habe ich in den nachfolgenden Tabellen IV und V die einzelnen Vegetabilien nach der Höhe des Phosphor-, bzw. des Eisengehaltes geordnet aufgestellt. Die Zahlen sind die auf 100 g Asche berechneten Werte.

Tabelle IV.

Paranüsse	48,004 47,466	% Phosphorsäure, auf Asche berechnet
Walnüsse	46,856 47,518	„ „ „ „ „
Erdnüsse	43,741 42,230	„ „ „ „ „
Haselnüsse	39.435 38,489	„ „ „ „ „
Kokosnüsse	33,207 33,347	„ „ „ „ „
Mandeln	30,395 30,234	„ „ „ „ „
Gelbe Bohnen (Wachsbohnen)	24,79 25,01	„ „ „ „ „
Sellerie (Kopf)	22,44 22,48	„ „ „ „ „
Zwiebeln	22,26 22,14	„ „ „ „ „
Grüne Bohnen	18.69 18,564	„ „ „ „ „
Steinpilz	18,379 17,878	„ „ „ „ „
Blumenkohl	18,034 18,025	„ „ „ „ „
Rote Rüben	17,364 17.488	„ „ „ „ „
Kartoffeln (rotschalig)	15.349 15,155	„ „ „ „ „
Kohlrabi (Kopf)	15,070 15 060	„ „ „ „ „
Gelber Hahnenkamm (Ziegenbart)	13.915 14,241	„ „ „ „ „
Tomaten	13.903 13,959	„ „ „ „ „
Möhren	13,226 13.281	„ „ „ „ „
Kartoffeln (Magnum bonum)	12,526 13,021	„ „ „ „ „
Winterkohl	12.200 12,530	„ „ „ „ „

Tabelle IV (Fortsetzung).

Wirsingkohl	12,054 11,908	%	Phosphorsäure,	auf	Asche	berechnet
Bananen	11,254 11,278	„	„	„	„	„
Weißkraut	11,015 11,895	„	„	„	„	„
Rettich	11,139 11,188	„	„	„	„	„
Rotkraut	10,818 10,665	„	„	„	„	„
Endivien	10,566 10,391	„	„	„	„	„
Kopfsalat	11,320 9,426	„	„	„	„	„
Äpfel	10,200 10,660	„	„	„	„	„
Kohlrabi (Blätter)	9,370 9,810	„	„	„	„	„
Sellerie (Blätter)	9,335 9,079	„	„	„	„	„
Spinat	8,190 8,190	„	„	„	„	„
Pfifferling	8,957 8,977	„	„	„	„	„
Feigen	4,510 4,464	„	„	„	„	„

Tabelle V.

Kopfsalat	4,51 4,4385	%	Eisenoxyd,	auf	Asche	berechnet
Kohlrabi (Blätter)	3,6277 3,6346	„	„	„	„	„
Winterkohl	3,333 3,366	„	„	„	„	„
Endivien	3,2528 3,3060	„	„	„	„	„
Kartoffeln (Magnum bonum)	2,4193 2.8191	„	„	„	„	„
Spinat	2,1937 2,1476	„	„	„	„	„
Sellerie (Blätter)	2,1183 2,0446	„	„	„	„	„
Grüne Bohnen	1,8620 1,8374	„	„	„	„	„
Möhren	1,7361 1,7073	„	„	„	„	„
Sellerie (Kopf)	1,7344 1,6890	„	„	„	„	„

Tabelle V (Fortsetzung).

Feigen	1,5277 % 1,5000	Eisenoxyd, auf Asche berechnet
Pfifferling	1,3614 1,3046	„ „ „ „ „
Gelbe Bohnen (Wachsbohnen)	1,2770 1,3813	„ „ „ „ „
Kartoffeln (rotschalig)	1,0953 1,0181	„ „ „ „ „
Rote Rüben	0,9985 1,0232	„ „ „ „ „
Kokosnüsse	1,0416 0,8370	„ „ „ „ „
Zwiebeln	0,9467 0,8982	„ „ „ „ „
Wirsing	0,9148 0,8917	„ „ „ „ „
Kohlrabi (Kopf)	0,7018 0,6760	„ „ „ „ „
Gelber Hahnenkamm (Ziegenbart)	0,5935 0,6191	„ „ „ „ „
Paranüsse	0,5575 0,5579	„ „ „ „ „
Weißkraut	0,5166 0,5649	„ „ „ „ „
Haselnüsse	0,5381 0,4505	„ „ „ „ „
Blumenkohl	0,4953 0,4649	„ „ „ „ „
Rettich	0,4058 0,4590	„ „ „ „ „
Äpfel	0,4210 0,4082	„ „ „ „ „
Mandeln	0,3526 0,3538	„ „ „ „ „
Rotkraut	0,3395 0,3096	„ „ „ „ „
Erdnüsse	0,1664 0,2492	„ „ „ „ „
Steinpilz	0,2135 0,1439	„ „ „ „ „
Tomaten	0,1577 0,1867	„ „ „ „ „
Bananen	0,1003 0,0916	„ „ „ „ „
Walnüsse	Spuren	„ „ „ „

Der Zubereitung der pflanzlichen Nahrungsmittel geht fast immer ein Abkochen mit Wasser voraus. Ein wesentlicher

Bestandteil der mineralischen Substanzen geht in dem Abkochwasser in Lösung, und da dieses Wasser keine Verwendung findet, gehen diese für die Ernährung wichtigen Stoffe teilweise verloren. Einen Versuch, die Menge des beim Kochen entstehenden Eisenverlustes zu ermitteln, nahm ich mit Spinat und Kopfsalat vor.

Die gewaschenen und zerkleinerten Pflanzen wurden mit destilliertem Wasser kalt angesetzt, dann zum Sieden erhitzt und etwa 1 Stunde darin erhalten. Der unlösliche Teil wurde von dem löslichen durch Filtrieren getrennt und beides getrocknet, bzw. eingedampft. Aus 1004 g Spinat wurden 104,4 g unlöslicher Rückstand und 76,95 g löslicher Extrakt gewonnen. 1120 g Kopfsalat ergaben 39,85 g unlöslichen Rückstand und 24,65 g löslichen Extrakt. Eine vorgenommene Eisenbestimmung ergab folgende Resultate:

	unlöslicher Rückstand:	löslicher Extrakt:
Spinat	0,73 % Eisenoxyd	0,17 % Eisenoxyd
	0,66 „ „	0,15 „ „
Kopfsalat	0,84 „ „	0,35 „ „
	0,85 „ „	0,39 „ „

Es erfolgt aus diesen Versuchen, daß man für Gemüse, von denen man das zum Abkochen benutzte Wasser nicht verwendet, nicht den vollen Eisenwert, den die natürliche Pflanze hat, annehmen darf.

Anschließend an diese Aschenuntersuchungen nahm ich noch in einigen Vegetabilien Bestimmungen von Lecithin und Stickstoff vor.

Zur Ermittlung des Lecithins wurden die Substanzen zuerst 12 Stunden bei 60° C mit absolutem Alkohol ausgezogen, der Alkohol wurde abfiltriert und bei 60° C verdunstet. Dann erfolgte eine Extraktion mit Chloroform im Soxlethapparat während 20 Stunden. Der Alkoholrückstand wurde mit Chloroform aufgenommen und mit dem zur Extraktion verwendeten Chloroform vereinigt. Das Chloroform wurde verdunstet und der Extrakt mit Soda und Salpeter vorsichtig verascht. In der Asche wurde die Phosphorsäure als $Mg_2P_2O_7$ bestimmt und daraus die Menge des Lecithins berechnet.

Die Stickstoffbestimmung erfolgte nach der Kjeldahlmethode.

Schwämme.

	Gefundene Menge $Mg_2P_2O_7$	Lecithin	Stickstoff
Pfifferling	0,1510 %	1,098 %	2,156 %
	0,1470 „	1,0687 „	2,240 „
Gelber Hahnenkamm .	0,152 „	1,115 „	1,512 „
	0,164 „	1,192 „	1,456 „
Steinpilz	0,066 „	0,480 „	2,044 „
	0,0693 „	0,503 „	2,044 „

Nüsse.

	Gefundene Menge $Mg_2P_2O_7$	Lecithin
Erdnüsse	0,075 %	0,5452 %
	0,071 „	0,5162 „
Paranüsse	0,035 „	0,2545 „
	0,035 „	0,2545 „

Über Atoxyl.

Dritte Mitteilung.

Von

Ferdinand Blumenthal und Ernst Jacoby.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Eingegangen am 17. Dezember 1908.)

Im Jahre 1863 stellte Béchamp durch Erhitzen von arsensaurem Anilin eine Verbindung dar, die er für das Anilid der Arsensäure hielt. Nach der Béchampschen Methode wurde im Jahre 1901 in dem wissenschaftlichen Laboratorium der Vereinigten Chemischen Werke eine Arsenverbindung dargestellt und in Übereinstimmung mit den Angaben Béchamps für das Metaarsensäureanilid gehalten. Dies Produkt hat der eine von uns 1901 als erster auf seine toxikologischen und pharmakologischen Eigenschaften geprüft und seine Einführung in die Therapie als relativ wenig giftiges Arsenpräparat empfohlen. Das Präparat erhielt den Namen Atoxyl.[1]) 1907 stellte Fourneau[2]) fest, daß das Atoxyl ein Natriumsalz war. Er hielt es für die Natriumverbindung eines Orthoarsensäureanilids. Moore, Nierenstein und Todd[3]) zeigten dann, daß das Präparat drei Moleküle Krystallwasser enthielt.

Erst P. Ehrlich und Bertheim haben die Konstitution des Atoxyls völlig aufgeklärt. Sie zeigten, daß es das Mononatriumsalz der p-Amidophenylarsinsäure sei, und daß der Krystallwassergehalt der einzelnen Produkte zwischen zwei und sechs Molekülen schwankt.[4])

---

[1]) Medizinische Woche 1902.

[2]) Journ. Pharm. Chim. 6. Ser. 25, 332.

[3]) Biochem. Journ. 2, 324, 1907.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 10 und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20. Juli 1907.

Die günstigen therapeutischen Eigenschaften, welche das Atoxyl bei der Behandlung der Trypanosomen-Krankheiten, insbesondere der Schlafkrankheit hatte, ferner seine kurativen Eigenschaften den Spirochaeten gegenüber, insbesondere denen der Syphilis (Uhlenhuth, Metchnikoff, Salmon), veranlaßte zahlreiche Kliniker, sich mit der Anwendung des Atoxyls besonders bei der Syphilis zu beschäftigen. Das Resultat ist, daß eine Beeinflussung der Syphilis durch Atoxyl statthat, daß es aber wünschenswert ist, diese Wirkung noch in irgendeiner Weise zu verstärken. Uhlenhuth, Nierenstein und Todd haben dabei an eine Kombination des Atoxyls mit Quecksilber resp. Quecksilberpräparaten gedacht. Blumenthal und Herschmann haben Jod in den Benzolring eingeführt.[1]) Auf diesem Wege hoffte man, die Wirksamkeit des Arsen durch andere bei der Syphilis wirksame Körper zu verstärken. Der zweite Weg besteht darin, aus dem Atoxyl selbst nur durch Veränderungen am Arsenrest neue Körper zu erhalten, von denen man sich eine größere Wirksamkeit als von dem ursprünglichen Atoxyl versprach. Dieser zweite Weg ist zuerst und besonders von Ehrlich[2]), aber auch von uns[3]) beschritten worden.

Für das Anilin ist bekannt, daß durch Substituierung der Wasserstoffatome in der Amidogruppe weniger giftige und pharmazeutisch wirksamere Körper entstehen. Führt man in die Amidogruppe eine Acetylgruppe ein, so erhält man das Acetanilid, einen Körper, der bekanntlich enorme antifebrile Eigenschaften hat und dabei erheblich weniger giftig ist als das Anilin. In gleicher Weise hat Ehrlich durch Substituierung des einen H der Amidogruppe durch ein Acetylradikal das Acetylatoxyl, das er Arsacetin nennt, als erheblich ungiftiger bei Tieren, Ratten, Mäusen und Hunden, als das Atoxyl gefunden. Diese Tatsache können wir für Kaninchen bestätigen.

Mehrere Kaninchen von $2^1/_2$ bis $3^1/_2$ kg erhielten 0,4 bis 0,5 g Atoxylum crystallisatum.[4]) Innerhalb 2 bis 6 Tagen starben diese Tiere,

[1]) Diese Zeitschr. 10. 248, 1908.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1908.

[3]) l. c.

[4]) Die hier verwandten Präparate stammen aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der Vereinigten chem. Werke in Charlottenburg.

während gleich schwere Kaninchen 0,6 bis 0,8 g Acetylatoxyl ertrugen. Erst bei 0,9 g Acetylatoxyl traten Krankheitserscheinungen auf, und ein Tier, welches 1 g bekommen hatte, starb nach 5 Tagen. Die Krankheitserscheinungen bei Kaninchen bestehen hauptsächlich zuerst in ziemlich schnell einsetzender Oligurie und Anurie. Wird Urin entleert, so enthält er meist Blut. Selbst Tiere, welche durchkommen, zeigen in den ersten 2 Tagen bei Dosen von 0,3 bis 0,4 g Atoxyl eine Verminderung des Urins. Bei der Sektion findet man starke Hämorrhagien in den meisten Organen, insbesondere eine hyperämische Niere. Das gleiche gilt vom Acetylatoxyl, nur daß eben bei diesem die Dosen erheblich größer gewählt werden können.

An dieser Stelle ein Wort über die Nomenklatur. Ehrlich hat analog der Sulfanilsäure die Atoxylsäure als Arsanilsäure bezeichnet und das Atoxyl, d. h. das Mononatriumsalz derselben, als Arsanil. Wir würden uns dieser Bezeichnung anschließen, wenn nicht der Name Atoxyl bereits allgemein bekannt wäre. Daß dieser Name ein Phantasiename ist, spricht nicht gegen seinen Gebrauch in wissenschaftlichen Arbeiten. Es liegt daher für uns keine Veranlassung vor, den Namen Atoxyl, der von uns bisher gebraucht wurde, aufzugeben, um so mehr, da diese Gruppe der Arsenverbindungen fast nur medizinisches Interesse hat. Das Ehrlichsche Arsanil ist identisch mit Atoxyl und Arsanilsäure mit Atoxylsäure.

Ersetzt man nun in der Amidogruppe die beiden H-Atome durch Methylgruppen, so gelangt man zu der von Michaelis dargestellten Dimethylphenylarsinsäure. Ihre Giftigkeit ist größer als die des Acetylatoxyls und ungefähr die gleiche wie die des Atoxyls.

Ein Kaninchen von 2630 g starb bei einer Dosis von 0,4 g, während 0,3 g von einem Kaninchen von 2540 g vertragen wurden. Es wurde das Natriumsalz dieser Verbindung angewandt.

Diese Beispiele zeigen, daß Substituierungen an der Amidogruppe der Körper der Atoxylgruppe für die Giftigkeit von erheblicher Bedeutung sein können — es ließen sich natürlich durch Einführung verschiedenster Radikale noch weitere Produkte in beliebiger Menge darstellen, wie dies für das Anilin geschehen ist.

Abweichend verhalten sich die Quecksilberpräparate. Wir erhielten ein Quecksilbersalz, indem wir Atoxyl mit einer gesättigten Lösung von Mercurichlorid versetzten. Diese Quecksilberverbindung zersetzt sich bei Zusatz von Natronlauge unter

Gelbfärbung. (Bildung von Quecksilberoxyd.) Es ist also damit ausgeschlossen, daß das Quecksilber sich im Kern selbst in ähnlicher Bindung wie das Arsen befindet. Nach der im Laboratorium der Ver. chem. Werke angestellten Analyse enthält dieses Salz 24,2 % Arsen, 32,3 % Quecksilber.

Ein analoges Quecksilbersalz läßt sich aus dem Acetylatoxyl gewinnen. Diese beiden Quecksilbersalze haben wir in bezug auf ihre Giftigkeit miteinander verglichen.

Ein Kaninchen, 2710 g, das 0,2 g des Quecksilbersalzes des Atoxyls erhalten hatte, starb nach 4 Tagen.

Ein Kaninchen, 1980 g, das 0,1 g erhalten hatte, nach 6 Tagen.

Ein Kaninchen, 2700 g, erhält 0,2 g acetylatoxylsaures Quecksilber, stirbt nach 4 Tagen.

Kaninchen, 2350 g, erhält 0,1 g, stirbt nach 7 Tagen.

Als Krankheitserscheinungen sind zu konstatieren bei den mit 0,2 g atoxylsaurem und acetylatoxylsaurem Quecksilber vergifteten Kaninchen fast völlige Anurie. Die Tiere litten an starken Durchfällen, und es ließen sich nach dem Tode in der Niere starke Anämie und verfettete Zellen konstatieren. Die Därme waren stark hyperämisch und zeigten Geschwürsbildungen. In der Niere waren ferner starke Kalkablagerungen. Ähnlich, nur milder, waren die Symptome bei den mit 0,1 g vergifteten Tieren.

Diese Quecksilbersalze sind in Wasser unlöslich. Wir haben sie daher mit Öl verrieben den Tieren eingespritzt.

Unsere Erwartung, daß entsprechend der geringeren Giftigkeit des Acetylatoxyls dem Atoxyl gegenüber das entsprechende Quecksilbersalz des Acetylatoxyls sich als erheblich ungiftiger erweisen würde als das atoxylsaure Quecksilber, wurde durch diese Versuche nicht bestätigt. Es war ein markanter Unterschied in der Giftigkeit beider Präparate in unseren Versuchen nicht zu konstatieren.

Blumenthal und Herschmann haben früher gezeigt, daß sich die Amidogruppe im Atoxyl durch Jod ersetzen läßt. Das so dargestellte Natriumsalz der p-Jodphenylarsinsäure hatte sich giftiger gezeigt als das Atoxyl. Dosen von 0,2 g waren für Kaninchen von 2 bis 3 kg tödlich. Als wir nunmehr durch Behandeln mit Mercurichlorid das Quecksilbersalz dieser Säure darstellten, zeigte sich, daß dies Präparat für Kaninchen weniger giftig war als die erwähnten Quecksilbersalze des Atoxyls und des Acetylatoxyls, denn die Tiere

zeigten nach Einspritzen von 0,1 bis 0,13 g keine Krankheitserscheinungen. Erst ein Tier, welches 0,2 g erhalten hatte, starb.

Kaninchen, 2145 g, erhält 0,2 g des Quecksilbersalzes der p-Jodphenylarsinsäure in Öl verrieben. Das Tier lebt 4 Tage, hat aber völlige Anurie in der ganzen Zeit. Auch nach dem Tode wird in der Blase kein Urin gefunden. Die Nieren sind sehr anämisch, im Darm starke Invagination einer Darmschlinge, Blutungen und Geschwürsbildung.

Kaninchen, 3270 g, erhält 0,1 g des Quecksilbersalzes der p-Jodphenylarsinsäure in Öl subcutan. Das Tier ist dauernd gesund.

Kaninchen, 2470 g, erhält das gleiche, Tier ist dauernd gesund.

Kaninchen, 2750 g, erhält 0,13 g des gleichen Präparates in Öl subcutan; dauernd gesund.

Es war also dieses Salz etaws ungiftiger als die Quecksilbersalze des Atoxyls und des Acetylatoxyls. Es ist dies um so auffallender, als das Natriumsalz der p-Jodphenylarsinsäure erheblich giftiger ist als Atoxyl. Wir finden also für die Quecksilbersalze, daß die Intaktheit der Amidogruppe irrelevant zu sein scheint, und der größere oder geringere Gehalt an Quecksilber scheint hier den Grad der Toxizität zu bedingen. Wir werden später nachweisen, daß die geringere Giftigkeit nicht auf schlechtere Resorption dieses Salzes gegenüber den beiden anderen Quecksilbersalzen beruht, welche ebenfalls unlöslich sind. Die relative Ungiftigkeit des Quecksilbersalzes der p-Jodphenylarsinsäure ist um so auffallender, als in ihm gleichzeitig drei äußerst differente Körper: Arsen, Quecksilber und Jod enthalten sind.

Lüdecke hat unter Erhaltung der Amidogruppe des Atoxyls Jod in diese Verbindung eingeführt und ist zu dem p-Jodamidophenylarsinsäurenatrium gelangt. Dieses zeigte sich für Kaninchen nicht weniger giftig als das von Blumenthal und Herschmann dargestellte p-Jodphenylarsinsäurenatrium, obwohl in der ersteren die Amidogruppe erhalten, die im letzteren durch Jod ersetzt war.

Es sind von uns auch Untersuchungen angestellt worden mit Präparaten, an denen Veränderungen an der Arsengruppe vorgenommen waren, zuerst mit einem von Karl Lüdecke durch Reduktion aus Atoxyl erhaltenen p-Amidophenylarsinoxyd. Dieses tötet ebenso wie das entsprechende

acetylierte Präparat in Dosen von 0,1 bzw. 0,2 g Kaninchen innerhalb weniger Stunden.

So erhielt ein Kaninchen von 2740 g 0,2 g des p-Amidophenylarsinoxyds subcutan. Das Präparat ist in Wasser unlöslich und wurde als Aufschwemmung eingespritzt, wobei ein Teil bei der Einspritzung daneben ging. Das Tier starb bereits zwei Stunden später unter Krämpfen.

Kaninchen von 2800 g erhielt 0,02 g derselben Substanz. Es starb drei Tage später. Eine anologe Giftigkeit zeigte das p-Acetylamidophenylarsinoxyd.

Wir sehen also, daß dies Präparat, das ein Reduktionsprodukt aus Atoxyl darstellt, eine enorme Giftigkeit dem Atoxyl gegenüber besitzt. Weit weniger giftig zeigte sich ein noch weiter reduziertes Atoxyl. Wir untersuchten das salzsaure Salz einer solchen Verbindung, die ziemlich ungiftig war. Kaninchen von 2365 g erhielt 0,2 g des salzsauren Arsenanilins und zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Wir kommen also zu folgenden Ergebnissen:

1. Für das Natriumsalz der p-Amidophenylarsinsäure (Atoxyl) scheint die allgemeine Regel Geltung zu haben, daß Veränderungen der Amidogruppe für die Giftigkeit von Bedeutung sind in dem Sinne, wie dies Ehrlich und Bertheim zuerst gezeigt haben, daß die Einführung von Säureradikalen (Essigsäure) zur erheblichen Verminderung der Giftigkeit beiträgt. Andere Veränderungen an der Amidogruppe, z. B. die Einführung von Methylgruppen vermindert die Giftigkeit nicht. Vollständige Ersetzung der Amidogruppe z. B. durch Jod hat eine Erhöhung der Giftigkeit zur Folge; ebenso der durch Ehrlich vorgenommene Ersatz der Amidogruppe durch eine Hydroxylgruppe.

2. Nimmt man an Stelle des Natriumsalzes die Quecksilberverbindungen, so spielen die Veränderungen in der Amidogruppe anscheinend für die Frage der Giftigkeit keine ausschlaggebende Rolle. Es kann sogar, wie das bei den Quecksilbersalzen der p-Jodphenylarsinsäure der Fall war, ein ungiftigeres Produkt resultieren. Für die Giftigkeit der Quecksilberpräparate scheint der Gehalt an Quecksilber von größerer Bedeutung als die Veränderungen an der Amidogruppe zu sein.

3. Veränderungen an der Arsengruppe führen zu ganz erheblichen Veränderungen der Giftigkeit. Die Reduktionspro-

dukte des Atoxyls und Acetylatoxyls können unter Umständen um das 20- bis 30fache die Giftigkeit des Atoxyls übersteigen.

Findet im Tierkörper eine Bildung von Anilin aus Atoxyl statt?

Wir haben schon oben erwähnt, daß bereits in der ersten Publikation im Jahre 1902 der eine von uns behauptet hat, daß es bei der Anwendung von Atoxyl nicht zu einer Vergiftung des Organismus mit Anilin kommt, daß also irgendwelche toxischen Mengen Anilin nicht abgespalten werden. Auf Grund der Sektionsbefunde bei Kaninchen und Hunden (Hämorrhagien in den verschiedensten Organen, insbesondere in der Niere, in der Blase und dem Darm) kam er zu dem Ergebnis, daß es sich bei der Atoxylvergiftung und -Wirkung lediglich um Arsenwirkungen handelte. Eine Bildung von Anilin aus Atoxyl war zwar nach der chemischen Konstitution möglich, sowohl bei Annahme der ersten Formel als Metaarsensäureanilid, als auch später, wenn auch schwerer, bei der richtigen Annahme als Natriumsalz der p-Amidophenylarsinsäure. Da aber immer wieder von der Möglichkeit, daß sich Anilin in wirksamen und toxischen Mengen im Organismus aus Atoxyl abspalten könne, in der Literatur die Rede war, so haben Blumenthal und Herschmann von neuem die Frage der Anilinabspaltung nach Atoxyleinspritzung aufgenommen und sind dabei zu einem absolut negativen Resultat gelangt. Weder war Anilin direkt im Harn, noch das aus Anilin entstehende p-Amidophenol nachweisbar. Beim Kaninchen haben wir öfters in dem ein bis mehrere Stunden nach Einspritzung gelassenen Harn eine deutliche Indophenolreaktion bekommen. Beim menschlichen Harn haben wir sie meist vermißt oder nur angedeutet gefunden. Es standen uns allerdings nur Harne mit 0,1—0,2 g Atoxyl subcutan gegeben zur Verfügung. In einem früher untersuchten Fall waren 0,4 g Atoxyl gespritzt worden, aber nur eine Mischprobe des innerhalb der ersten 24 Stunden entleerten Harns untersucht worden. Das Resultat war negativ. Da aber Atoxyl selbst die Indophenolreaktion gibt, so beweist der positive Ausfall dieser Probe nichts für die Bildung von Anilin im Tierkörper.

Sticker[1]) hat sich neuerdings bei Hunden anatomisch mit der Frage der Anilin- und Arsenvergiftung beschäftigt und kommt ebenfalls zu dem Ergebnis, daß nach Atoxyleinführung keinerlei anatomische Veränderungen entstehen, welche auf Anilinvergiftung zu beziehen sind. Auch neuerdings von uns angestellte Versuche, welche zur Aufgabe hatten, nach Atoxylinjektion eine Vermehrung der Ätherschwefelsäuren im Harn nachzuweisen, wie sie nach Bildung von p-Amidophenol im Tierkörper sich konstatieren lassen müßte, hatten ein absolut negatives Ergebnis.

Wir haben also bei der Wirkung und Vergiftung durch Atoxylkörper die Arsengruppe bzw. andere differente Körper, Quecksilber, Jod usw. lediglich in Betracht zu ziehen, wobei wir allerdings die eigenartige Konstitution der Körper berücksichtigen müssen. (Siehe oben.)

Wirkungsart des Atoxyls im Tierkörper.

Wenn wir die Trypanosomen- und Spirochätenkrankheiten für diese Betrachtung zugrunde legen, so geschieht das, weil an ihnen die Wirkung direkt erkannt werden kann und zwar aus der Fähigkeit oder Unfähigkeit des Atoxyls die Mikroorganismen abzutöten. Für die Wirkung kommen im wesentlichen folgende Anschauungen in Frage:

1. Das Atoxyl wirkt im Tierkörper auf die Trypanosomen ein, indem es dieselben wie ein Antiseptikum direkt abtötet.

2. Das Atoxyl wird im Körper in einem bestimmten Organ abgelagert.

3. Das Atoxyl wird im Tierkörper in eine andere für die Mikroorganismen bactericide Substanz umgewandelt.

4. Das Atoxyl regt die Organe zur Bildung von Vorgängen und Stoffen an, wodurch die Mikroorganismen vernichtet werden.

---

[1]) Sticker, Berl. klin. Wochenschr. 1908.

1. Einwirkung des Atoxyls und seiner Derivate auf die Trypanosomen.

Reagensglasversuche von Ehrlich, Nierenstein und Todd, Uhlenhuth und anderen haben gezeigt, daß eine direkte Vernichtung der Trypanosomen und Spirochäten durch Atoxyl nicht statthat. M. Jacoby und Schütze[1]) fanden erst durch ziemlich konzentrierte Atoxyllösungen $2^1/_2$ bis 5 % deutliche Beeinflussung. Weit stärker wirkte arsenige Säure (Löffler und Rühs, M. Jacoby und Schütze). Noch intensiver als arsenige Säure wirken dagegen einige Atoxylderivate, namentlich Reduktionsprodukte (P. Ehrlich[2]). Ehrlich hat mit dem p-Phenolarsinoxyd Trypanosomen direkt abgetötet, und noch wirksamer zeigte sich das von ihm dargestellte Arsenophenylglycin (Ehrlich, Wendelstadt[3]). Uhlenhuth und Manteufel[4]) konstatierten die direkte Abtötung der Spirochäten durch die oben erwähnten Quecksilbersalze, während Atoxyl gegen Spirochäten direkt nicht wirkte; ferner durch p-Amidophenylarsinoxyd. Es ist demnach kein Zweifel, daß dem Atoxyl nahestehende Körper und Verbindungen des Atoxyls mit Hg existieren, die im Gegensatz zu ihm selbst eine sehr intensive, direkt abtötende Einwirkung auf die Trypanosomen und Spirochäten ausüben.

2. Verteilung des Atoxyls im Tierkörper.

Wir haben in einer früheren Arbeit nachgewiesen, daß bei Kaninchen das Arsen nach Einspritzung von Atoxyl noch nach 16 Stunden im Blute in erheblicher Menge nachweisbar ist, daß dagegen in anderen Organen gar keine oder nur geringe Mengen von Arsen vorhanden sind. Wir fanden es beim Kaninchen in relativ größerer Menge nur noch in der Knochensubstanz, in kleinen Mengen in der Leber und im Gehirn. Daraus schlossen wir, daß eine eigentliche Bindung des Atoxyls oder Arsens an die Gewebe nicht stattfindet und daß

[1]) Diese Zeitschr. 12, 193, 1908.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1908 u. a.
[3]) Wendelstadt, Berl. klin. Wochenschr., Dez. 1908.
[4]) Med. Klinik 1908.

die Hauptwirkung im Blute statthat. Wedemann[1]) konstatierte bei Ratten, daß Arsen nach Atoxylinjektion in relativ großer Menge im Blute und auch in der Leber nachweisbar ist, selten fand er es in der Niere, fast nie in anderen Organen. Croner und Seligmann[2]) konstatierten beim Hunde, daß nach Atoxyleinspritzung Arsen in der Leber gefunden werden konnte. Aus diesen Befunden geht hervor, daß das Atoxyl in wesentlicher Menge nur im Blute kreist, und daß ein geringer Teil desselben in der Knochensubstanz und in der Leber beim gesunden Tier abgelagert wird. Ob beim Kranken eine besondere Affinität des Arsens zu dem erkrankten Organ stattfindet, ist durch diese Untersuchungen natürlich nicht entschieden. In einem mit Atoxyl behandelten Falle von Sarkom beim Hunde fand Blumenthal es in dem Tumor. Über die Verteilung des Arsenatoxyls beim Menschen liegen bisher keine Untersuchungen vor.

3. Veränderung des Atoxyls im Tierkörper.

Die erste Annahme über die Wirkung des Atoxyls war, daß Atoxyl dadurch insbesondere wirken könnte, daß der arsenhaltige Komplex als arsenige Säure abgespalten würde, und diese in statu nascendi eine ganz andere Wirkung entfalten könne, als direkt eingeführte arsenige Säure[3]). Hat doch die arsenige Säure im Reagensglas eine direkte Wirkung auf die Trypanosomen und Spirochäten. Diese Ansicht konnte aber bisher von keinem der Untersucher, welche sich mit der Frage beschäftigt haben, auch von uns nicht bestätigt werden, denn es ist bisher nicht arsenige Säure oder Arsen in anorganischer Form im Harn von Atoxylgespritzten in einwandsfreier Weise nachgewiesen worden. Insbesondere möchten wir hier auf die Arbeit von Welander[4]) hinweisen. Wenn aber auch bisher anorganisches Arsen im Harn nicht einwandsfrei nachgewiesen werden könne, so ist natürlich nicht gesagt, daß es nicht in dieser Form im Organismus, z. B. in der Leber, in den Knochen,

---

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1908.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1907.
[3]) Med. Klinik 1907.
[4]) Archiv für Syphilis usw. 1907.

in den Haaren zur Ablagerung und zur Wirkung kommt, und daß diese Mengen so langsam und in so kleiner Menge ausgeschieden werden, daß sich die Substanz, als welche das anorganische Arsen im Harne erscheint, nicht identifizieren läßt. Groß kann ja die Menge Arsen, die im Organismus als arsenige Säure zur Wirkung kommt, bei der großen Giftigkeit derselben nicht ein.

Das Arsen, welches wir im Harn nach der Atoxyleinspritzung nachweisen können, ist in einer Form vorhanden, welche darauf schließen läßt, daß ein wesentlicher Teil des Atoxyls als solches oder als ein resp. mehrere der dem Atoxyl nahestehenden Körper ausgeschieden wird.[1]) Genauer sind diese Körper noch nicht identifiziert.

Ehrlich hat angenommen, daß das Atoxyl im Organismus zu einer Substanz reduziert wird, welche direkt die Trypanosomen abtötet. Diese Annahme findet eine Bestätigung in folgenden Tatsachen. Erstens sind einige aus dem Atoxyl dargestellte Reduktionsprodukte. wie z. B. das p-Amidophenylarsinoxyd und das von Ehrlich dargestellte Phenylarsinoxyd, im Reagensglase heftige Gifte für die Trypanosomen, während das beim Atoxyl nicht der Fall ist. Zweitens hat Levaditi[2]) gezeigt, daß das Atoxyl beim Vermischen mit verschiedenen Organen, z. B. Leber, Muskeln, die Fähigkeit gewinnt, Trypanosomen abzutöten, also wahrscheinlich in den wirksamen Körper umgewandelt wird. Drittens hat Friedberger[3]) gefunden, daß das Atoxyl mit einer reduzierenden Substanz, der Thioglykolsäure, versetzt, befähigt wird, Trypanosomen zu vernichten, und viertens ist es uns gelungen, im Harn Atoxylbehandelter mit β-Naphthylamin einen Niederschlag zu bekommen, welcher sich von dem Atoxyl-β-Naphthylaminniederschlag unterschied, also einem dem Atoxyl nahestehenden Körper zukam. Dieser Farbstoff zeigt in bezug auf Farbe und Unlöslichkeit in Lauge eine Übereinstimmung mit einem von uns aus dem p-Amidophenylarsinoxyd mit β-Naphthylamin gewonnenen

---

[1]) Blumenthal-Herschman l. c. — Lockemann u. Paucke, Deutsche med. Wochenschr. 1908. — Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr. 1908.

[2]) Soc. de biol. compt. rend. 1908.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1908.

Azofarbstoff. Alle diese Punkte tragen dazu bei, es sehr wahrscheinlich zu machen, daß ein Teil des Atoxyls wenigstens im Organismus zu einer ihm nahestehenden Substanz reduziert wird, und daß diese für die Wirksamkeit des Atoxyls im Tierkörper von erheblicher Bedeutung ist. Natürlich ist damit nicht gesagt, daß dies den einzigen Wirkungsmodus des Atoxyls auf die Trypanosomen und Spirochäten darstellt. Es ist vielmehr sehr wahrscheinlich, daß das Atoxyl auch noch in anderer Weise wirkt. Daß die Reduktionsprodukte, welche im Organismus dabei gebildet werden können, für denselben von nicht so großer Giftigkeit sein können, wie z. B. das p-Amidophenylarsinoxyd, oder daß es sich doch höchstens um Spuren von dieser oder einer ähnlichen Substanz handeln kann, geht aus Versuchen hervor, die wir angestellt haben.

Wir haben Leberbrei, auch Muskelbrei, mit 2%iger Atoxyllösung versetzt. Nach mehrtägigem Stehen im Brutschrank unter Chloroformzusatz gelang es nicht, nachzuweisen, daß sich erhebliche Mengen einer giftigen Substanz, wie wir das beim p-Amidophenylarsinoxyd gesehen haben, bildeten. Wie oben gezeigt, töten noch 0,02 g dieser Substanz ein Kaninchen von 2800 g. Ferner haben wir einem Kaninchen 0,5 g Atoxyl subcutan eingespritzt. Nach drei Stunden wurde das Tier durch Verbluten getötet. Mit diesem Blut, ca. 20 ccm, wurde ein anderes Kaninchen gespritzt. Auch hier ließ sich keine erhöhte Giftigkeit nachweisen. Es war also im Blut keine stark giftig wirkende Substanz zu konstatieren.

Es geht daraus hervor, daß entweder die aus dem Atoxyl entstehenden Reduktionsprodukte nicht identisch sind mit dem p-Amidophenylarsinoxyd, oder daß nur minimale Spuren von dieser Substanz gebildet werden, oder daß die entstehenden Reduktionsprodukte, falls sie giftig sind, sofort im Organismus weiter entgiftet werden. Man konnte bei dieser Sachlage daran denken, daß noch andere Vorgänge für die Wirksamkeit des Atoxyls in Frage kamen,

4. daß nämlich im Organismus eine Anregung von Vorgängen statthat, welche die Trypanosomen vernichten.

Es ist klar, daß man dabei auch an die Erregung einer Hyperleukocytose dachte. Bisher konnte eine solche im Experiment nicht mit wünschenswerter Sicherheit nachgewiesen werden. Irgendwelche phagocytotischen Vorgänge vermißten

Martin Jacoby und Schütze in einer großen Anzahl daraufhin angestellter Untersuchungen.

Wir haben früher die Meinung vertreten, daß die Hauptwirkung des Atoxyls im Blute statthat, wo es entweder direkt durch Abspaltung arseniger Säure wirkt oder auch katalytisch in Funktion treten kann, indem es auf für die Heilung wichtige Vorgänge einwirkt. Wir standen damals noch unter der Vorstellung, daß ein arsenhaltiger Körper nur durch Abspalten von arseniger Säure wirken könne, denn es war uns damals noch unbekannt, daß ein Teil des Atoxyls in organischer Form ausgeschieden wurde. Wenn wir also heute annehmen, daß ein Teil des Atoxyls auch in organischer Form zur Wirksamkeit gelangt, so hat der von uns damals ausgesprochene Satz doch nichts von seiner Berechtigung verloren. Auch heute noch sind wir der Ansicht, daß das Atoxyl katalytisch diejenigen Funktionen des Organismus, welche für die Abtötung der Mikroorganismen von Bedeutung sind, mobilisiert und eine Resorption von Krankeitsprozessen anregt, und auch teilweise durch Abspaltung von arseniger Säure in statu nascendi wirkt. Hinzugekommen ist nur, daß das Atoxyl auch als Reduktionsprodukt, das heißt in organischer Form, wirksam sein kann. Nach Robert Koch wird durch eine Abtötung einzelner Krankheitserreger eine Resorption von Krankheitsprozessen durch das Atoxyl in die Wege geleitet. Dadurch entstehen Immunstoffe, welche die Ursache einer gewissen Immunität werden. Wir sehen also, daß wir zwar eine Reihe von Vermutungen und Wahrscheinlichkeiten über die Atoxylwirkung im Organismus haben, daß aber als gesicherte Tatsache nur die Wirksamkeit des Atoxyls im Tierkörper gegenüber der Nichtwirksamkeit im Reagensglase bestehen bleibt. Alles, was über die Vorgänge, auf denen die Wirksamkeit im Tierkörper beruht, gesagt ist, ist bisher nur Hypothese.

Wie Woithe auf der Naturforscherversammlung in Köln treffend hervorgehoben hat, haben wir in dem Atoxyl zum ersten Male ein inneres Antisepticum kennen gelernt, welches im Gegensatz zu den bekannten Antisepticis im Reagensglase nicht wirkt. Ehrlich hat ferner darauf hingewiesen, daß die uns bekannten Antiseptica, z. B. Sublimat, schon des-

halb im Tierkörper nicht angewendet werden können, weil ihre Giftdosis für die Zellen kleiner ist, als ihre Giftdosis für die Mikroorganismen. Glücklicherweise ist das bei dem Atoxyl und seinen Derivaten nicht der Fall. Vielleicht schlummert in dem Arzneischatz der Chemie, namentlich der Anilinkörper, noch manches innere Antisepticum, welches bisher nur dadurch noch nicht aufgedeckt wurde, weil es ähnlich wie das Atoxyl im Reagensglas keine Wirkung entfaltet, und wir bisher gewohnt waren, nur solche Substanzen am Tierkörper zu prüfen, welche uns im Reagensglas als wirksam gegenüber Mikroorganismen erschienen. Mit neuer Hoffnung dürfen wir daher, nachdem diese Ansicht durch die Forschungen am Atoxyl als eine Irrlehre erkannt ist, wieder an die Suche innerlich wirkender Antiseptica gehen.

Nachweis des Atoxyls und seiner Derivate im Harn.

Blumenthal und Herschmann haben zuerst nachgewiesen, daß der Harn Atoxylbehandelter nach Diazotieren mit Salzsäure und Natriumnitrit und Zusatz von α-Naphthol eine prachtvolle Rotfärbung gibt, die auf der Bildung eines Azofarbstoffs mit α-Naphthol beruht. Ehrlich und Bertheim, welche zuerst die Diazotierung des Atoxyls vorgenommen haben, hatten vorher gezeigt, daß das diazotierte Atoxyl mit β-Naphthylamin einen roten Farbstoff gibt, welcher sich in kalter Sodalösung in schön roter Farbe löste. Auch diese Reaktion gibt der Harn Atoxylbehandelter, nur daß nicht immer ein roter Farbstoff entsteht, der sich in kalter Soda löst, sondern die Niederschläge, welche sich bilden, sind entweder schön rot (Lockemann und Paucke), oder mehr braun gefärbt (Blumenthal und Herschmann, Lockemann und Paucke). Die braunen Niederschläge sind teilweise gar nicht in Soda löslich, teilweise auch nicht einmal in Natronlauge. Diese Reaktionen geben die Harne Atoxylbehandelter in der Regel nur in den ersten bis 24 Stunden nach der Atoxylinjektion, wobei die Menge der Injektion von Bedeutung ist: 0,2—0,5 g. Einige Male haben wir auch später als nach 24 Stunden noch eine Reaktion bekommen. Croner und Seligmann und Lockemann und Paucke stellten fest, daß nach wiederholter Atoxyl-

injektion die Ausscheidung des Arsens bzw. des Atoxyls und der ihnen nahestehenden Produkte stark verzögert wird. Das gleiche ist der Fall beim Kaninchen. Diese gleichen Reaktionen mit α-Naphthol und β-Naphthylamin geben nun auch die von uns dargestellten Derivate des Atoxyls, so z. B. die Quecksilberverbindung. Das Quecksilbersalz des Atoxyls wird mit Salzsäure und Natriumnitrit diazotiert und mit Zehntellösung von salzsaurem β-Naphthylamin versetzt. Es bildet sich ein ziegelroter Niederschlag, der in Soda mit purpurroter Farbe löslich ist. Beim Ansäuern mit Salzsäure bildet sich wieder ein Niederschlag, der sich bei weiterem Zusatze von Salzsäure mit purpurroter Farbe auflöst. Das gleiche zeigt sich bei dem Quecksilbersalz des Acetylatoxyls, nur muß dasselbe vor der Diazotierung durch Kochen mit Salzsäure verseift werden.

p-jodamidophenylarsinsaures Natrium. Beim Ansäuern mit Salzsäure fällt erst das salzsaure Salz aus, dann bei weiterem Zusatz tritt Lösung ein. Nach Diazotieren mit Natriumnitrit und Zusatz von salzsaurem β-Naphthylamin bildet sich ein purpurroter Niederschlag, der in Soda mit orangeroter Farbe löslich ist. Beim Ansäuern mit Salzsäure bildet sich ein roter Niederschlag, der sich bei weiterem Zusatz von Salzsäure auflöst.

p-Amidophenylarsinoxyd. Nach Zusatz von Salzsäure und Natriumnitrit und salzsaurem β-Naphthylamin entsteht ein dunkelroter Niederschlag, der fast unlöslich ist in heißer Natronlauge. Kaninchen erhält 0,7 g Acetylatoxyl in 10 $^0/_0$iger wässeriger Lösung. Nach 24 Stunden ist kein Urin vorhanden, das Tier ist krank. Nach 48 Stunden werden 30 ccm Urin entleert, der Harn gibt nach Verseifung die α-Naphtholprobe und die Probe mit β-Naphthylamin.

Kaninchen, Gewicht 3100 g, erhält 0,4 g Atoxyl subcutan. Nach 24 Stunden 90 ccm Harn; die α-Naphtholprobe ist positiv, ebenso die Probe mit β-Naphthylamin.

Kaninchen, Gewicht 3565 g, erhält 0,5 g Acetylatoxyl. Nach 24 Stunden wird der Harn untersucht: α-Naphtholprobe nach Kochen des Harns mit Salzsäure positiv, nach 48 Stunden nach Kochen des Harns mit HCl ebenfalls positiv; ohne vorheriges Kochen mit Salzsäure ist die Reaktion negativ.

Wir ersehen daraus, daß das Acetylatoxyl und seine Hg-Verbindungen unverseift den Organismus verlassen.

Ein Kaninchen von 2700 g, das 0,2 g acetylatoxylsaures Quecksilber subcutan bekommen kat, entleert 24 Stunden nach der Injektion 20 bis 25 ccm Harn. Direkt gibt der Harn nicht die α-Naphtholprobe. Nach Kochen mit Salzsäure ist die α-Naphtolreaktion schwach positiv. Nach 4 Tagen stirbt das Tier, in der Blase sind 20 bis 25 ccm; die α-Naphtholreaktion ist erst nach Kochen mit Salzsäure positiv.

Kaninchen, Gewicht 2710 g, erhält 0,2 g atoxylsaures Quecksilber. Vier Tage später ist das Tier tot. Der in der Blase befindliche Harn gibt die α-Naphtholreaktion; desgleichen beim Kochen mit Salzsäure und Chromsäure eine dunkle Färbung.

Kaninchen, Gewicht 2350 g, erhält 0,1 g acetylatoxylsaures Quecksilber subcutan. Vier Tage wird kein Harn gelassen, am fünften Tage läßt das Tier 190 ccm Harn. Nach Kochen mit Salzsäure war die α-Naphtholreaktion zweifelhaft; direkt absolut negativ. Zwei Tage später ist das Tier tot.

Kaninchen, Gewicht 1950 g, erhält 0,1 g atoxylsaures Quecksilber subkutan. Nach 24 Stunden sind 46 ccm Harn vorhanden. Die Chromsäurereaktion ist negativ, die α-Naphtholreaktion positiv. Am zweiten Tage sind 90 ccm Harn vorhanden. Die α-Naphtolreaktion ist schwach. Am dritten Tage 25 ccm Harn, α-Naptholreaktion negativ.

Kaninchen, Gewicht 2580 g, erhält 0,3 g Atoxyl. Nach einer Stunde 20 ccm Harn, keine Naphtholreaktion; nach 48 Stunden werden 180 ccm Harn gelassen, α-Naphtholreaktion stark; nach 72 Stunden 90 ccm Harn, schwache α-Naphtholreaktion.

Kaninchen, Gewicht 2950 g, 0,5 g Atoxyl per os; nach 24 Stunden 20 ccm Harn, α-Naphtholreaktion positiv. Von da ab wird kein Harn mehr entleert bis zum Tode des Tiers, der nach drei Tagen eintritt.

Wir haben einige Versuche angestellt, um zu sehen, wie schnell die α-Naphtholreaktion nach Atoxyl resp. Acetylatoxylinjektion beim Kaninchen und Menschen auftritt. Bei letzterem haben wir nur Atoxyl eingespritzt.

Die α-Naphtholreaktion ist im Harn solcher Kaninchen bereits in den 1 bis 2 Stunden nach der Injektion gelassenen Portionen positiv und nach 24 Stun4en meist schon wieder

verschwunden. Allerdings konnten diese Versuche nur mit kleinen Dosen 0,1 g Atoxyl resp. 0,2 g Acetylatoxyl angestellt werden. Nimmt man nämlich größere Dosen, so tritt meist bei den Kaninchen Oligurie auf, und der erste Harn erscheint selten vor 24 Stunden; in diesen Fällen ist dann häufig die α-Naphtholprobe noch nach 48 Stunden post Inject. vorhanden. Bei einem nephritischen Kaninchen zog sich der positive Ausfall der Probe über drei Tage hin.

Beim Menschen ist bei kleineren Dosen 0,1 g die Probe nur in den 2 bis 8 Stunden post. Inject. gelassenen Urinproben positiv gewesen. Bei steigenden Dosen scheint nach den wenigen Erfahrungen, die wir machen konnten, der Harn entsprechend länger die Reaktion zu geben. Auch hier dürfte die Intaktheit der Niere für die Schnelligkeit der Ausscheidung der Atoxylkörper eine Rolle spielen. — Es war früher die Rede von der relativ geringeren Giftigkeit des Quecksilbersalzes der p-Jodphenylarsinsäure gegenüber den Quecksilbersalzen der Atoxyl-, resp. Acetylatoxylsäure. Man konnte daran denken, daß diese Salze, da sie unlöslich (in Öl) injiziert wurden, an und für sich schlecht und untereinander verschieden schnell resorbiert wurden. Beides scheint nicht der Fall zu sein. Denn schon drei Stunden nach einer Injektion des Hg-Salzes der p-Jodphenylarsinsäure war reichlich Jod im Harn zu konstatieren. Die stärkste Jodprobe gab der innerhalb der ersten 24 Stunden gelassene Harn; schwächer waren die Jodproben der am 2. und 3. Tage post Inject. gelassenen Harnmengen; später waren noch einige Tage Spuren von Jod nachweisbar. Direkt gab der Harn niemals die Jodprobe. Erst nach Veraschen des Harns war sie positiv. Daraus geht hervor, daß das Jod nicht in anorganischer Form ausgeschieden wird, wenigstens nicht in nachweisbarer Menge.

Über die schwarze Kephalopodentinte.

Von

Raffaele Paladino.

(Aus der chemischen Abteilung der zoologischen Station und dem physiologisch-chemischen Institut der Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1908.)

Man weiß, daß alle Kephalopoden eine birnförmige, mehr oder weniger ausgedehnte schwarze Masse längs der Mittellinie besitzen, die sich an den Mastdarm lehnt und mit der Leber fast verbunden ist. Sie wird mit dem Namen von Schwarzblase oder Tintenbeutel bezeichnet, und bildet eben das Charakteristicum der Kephalopoden. Er tritt unter den anderen blaß erscheinenden Organen hervor, was bei der Durchschneidung dieser Tiere sofort in die Augen fällt.

Aus der Literatur geht hervor, daß dieses Organ bereits die Aufmerksamkeit öfter auf sich gelenkt hat; obgleich man aber schon seit Aristoteles den Tintenbeutel und seinen Inhalt kennt, so weiß man doch wenig über die Zusammensetzung dieses Sekrets. Aus dem Werke von Fürth[1]), welchem ich die am Ende dieser Arbeit angegebenen Citate entnehme, sehe ich u. a., daß Bizio bei der Reinigung der Molluskentinte dieselbe mit Wasser und Alkohol behandelte, sie dann mit verdünnter Salpetersäure lange kochen ließ und den Rückstand, das Melanin, mit Kaliumcarbonat und Wasser wusch.

Desfosses und Variot ließen lange Zeit hindurch das Pigment in verdünnter Kalilauge und dann in verdünnter Salzsäure liegen; sie analysierten endlich den mit Wasser gut ausgewaschenen und getrockneten Rückstand.

---

[1]) Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere.

Girod reinigte den Farbstoff mit Alkohol und Äther, mit Kaliumcarbonatlösung, mit verdünnter Salzsäure und schließlich warmem Wasser.

Man sieht daraus, wie unvollständig die Untersuchungen über diese und ähnliche gefärbte Sekrete sind. Daher unternahm ich es auf Rat von Prof. Malerba, einen Beitrag zu zu der chemischen Kenntnis der Kephalopodentinte zu liefern. Zunächst sei über die Eledone-Moscatatinte berichtet, die man noch nicht untersucht hat und von dem Tiere in kleiner Quantität erhält. Es folgen dann Untersuchungen über Sepia officinalis, die uns in größerer Quantität zu Gebote stand; hieran schließt sich die Prüfung des Pigmentes, welches dieses Sekret bildet, nämlich des Melanins, das mit den schon bekannten Melaninen verglichen werden soll.

Um mir die Sepia möglichst gut zu verschaffen, entfernte ich die Blase, als das Tier noch lebte oder sogleich nach seinem Tode.

Die in solcher Weise erhaltene Flüssigkeit war dick, von einer braunschwarzen, starken Färbung, ohne einen charakteristischen Geruch und von alkalischer Reaktion. Unter dem Mikroskop erkannte man eine Grundflüssigkeit, in welcher sich eine außerordentliche Zahl kleiner isolierter oder gruppierter Körperchen außer mit Pigment beladenen Zellen bemerken ließ.

Chemische Untersuchung.

Die Methode, die ich wählte, war die nämliche bei dem Eledonen- und Sepiaschwarz, und die Resultate waren, wie man bemerken wird, nur in Hinsicht der quantitativen Daten verschieden.

Ich begann damit, im Trockenschrank bei 100° C mehrere Gramme von gesammelter Sepia zu trocknen, bis ich keine Veränderung bei verschiedenen Wägungen mehr bemerkte. Ich erhielt dabei einen festen Rückstand. Die Differenz zeigte die Quantität des in der angewandten Substanz enthaltenen Wassers an. Später behandelte ich gleicherweise eine größere Sepiamenge. Ich wog dann 4 g des getrockneten Rückstandes, die ich zur Bestimmung der organischen löslichen Stoffe gebrauchte. — Ich fügte mehrere Volumina Alkohol hinzu und ließ das Ganze

24 Stunden lang stehen; ich schüttelte es mehrfach um und sammelte es endlich auf einem Filter und wusch es successive mit siedendem Wasser, mit 90 %igem, mit absolutem kaltem und dann mit siedendem Alkohol und endlich mit Alkohol und Äther.

Die auf diese Weise erhaltenen verschiedenen Extrakte wurden nacheinander in einer Platinschale auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand im Trockenschrank bei 100° C zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das erhaltene Gewicht zeigte die organischen, löslichen Substanzen und die löslichen Salze an. Dieser Rückstand wurde dann in derselben Schale, in der man ihn getrocknet hatte, verascht, um die organischen Substanzen zu zerstören; das erhaltene Gewicht zeigte die löslichen Mineralsubstanzen an. Der Unterschied zwischen dem Gewicht der organischen löslichen Substanzen und löslichen Salze und das Gewicht der löslichen Mineralstoffe zeigte das Gewicht der löslichen organischen Substanzen an. Es wurde inzwischen der auf dem Filter gebliebene Teil im Trockenschranke getrocknet, mit dem Filter verascht und dann gewogen. Dieses Gewicht ergab die unlöslichen Mineralsubstanzen. Endlich erhielt man das Gewicht der unlöslichen organischen Stoffe aus der Differenz zwischen dem Gewicht der ursprünglich angewandten Substanz (4 g) und dem Totalgewicht der löslichen und unlöslichen Mineralsubstanzen und der löslichen organischen Substanzen. Ich werde am Ende dieser Arbeit in Prozenten die Ergebnisse dieser quantitativen Untersuchungen angeben.

Qualitative Untersuchungen. — Asche.

Folgende Untersuchungen wurden sowohl mit der Sepienasche von Eledonen-Moscata als von Sepia officinalis ausgeführt. Die darin gefundenen Basen und Säuren waren in beiden Fällen dieselben: daher werde ich eine gemeinsame Beschreibung geben.

Die fein pulverisierten Aschen waren grauweiß. Ich sammelte sie in einem kleinen Kolben, welcher destilliertes Wasser enthielt, und erwärmte denselben gewöhnlich bis zum Sieden. Nicht alles löste sich im Wasser auf, sondern es blieb ein ungelöster Teil, den ich abfiltrierte und sammelte.

Die wässerige alkalisch reagierende Lösung wurde folgenden Proben unterzogen.

Ein kleiner Teil wurde fast völlig eingedampft und der Rückstand im Wasser gelöst. Ein in diese Lösung getauchter Platindraht gab in der Flamme eine gelbe Farbe, die das Natrium charakterisiert. Der Ausfall dieser Probe wurde durch den weißen Niederschlag bestätigt, den man mit metaantimonsaurem Kalium erhält. Außerdem gab die Behandlung mit Platinchlorid den gelben Niederschlag des Platindoppelsalzes.

Ammoniumoxalat gab einen leichten weißen Niederschlag, der auf eine kleine Quantität Kalk wies. Wegen der Abwesenheit von Magnesium entstand kein charakteristischer Niederschlag von Ammoniummagnesiumphosphat auf Zusatz von phosphorsaurem Natrium plus Ammoniumchlorid. Natrium, Kalium und Calcium sind also die bei der Prüfung des löslichen Aschenanteiles identifizierten Basen.

Ein anderer Teil der wässerigen ursprünglichen Lösung wurde dann bis zu einem kleinen Volumen konzentriert. Einige Tropfen Salzsäure erzeugten ein lebhaftes Aufbrausen und die Entwicklung eines Gases, welches das Kalkwasser trübte: es war also Kohlensäure. Die Schwefelsäure wurde mit Salzsäure und Chlorbarium in einer anderen Probe der ursprünglichen Lösung nachgewiesen.

In einem kleinen Teil der ursprünglichen Lösung wurde mit Salpetersäure und Silbernitrat die Gegenwart von Chloriden festgestellt.

Phosphorsäure konnte weder mit Magnesiamischung noch mit Molybdanlösung aufgefunden werden.

Die schon genannten Basen sind also an HCl, H_2CO_3 und H_2SO_4 gebunden.

Der unlösliche Aschenanteil wurde mit warmer Salzsäure behandelt. Man erhielt einen rötlichen Rückstand von Eisenoxyd, der sich nach Zugabe einiger Tropfen von Salpetersäure ganz auflöste. Schwefelwasserstoff gab keinen Niederschlag, sodaß die Aschen weder Kupfer noch ein anderes Metall dieser Gruppe enthielten. Ammoniak erzeugte keine charakteristisehe Färbung und Ferrocyankalium verursachte keinen Niederschlag. Mit den oben erwähnten Reagenzien konnte man auch hier die Anwesenheit von Kalk und Natrium dartun. Zu einem Teile

der Flüssigkeit fügte man Ammoniumchlorid und Ammoniak hinzu und erwärmte das ganze bis zum Sieden. In dem braunroten flockigen Niederschlag ergab sich die Anwesenheit von Eisenoxyd, aber nicht von Ferriphosphat wegen des Fehlens von Phosphorsäure. Außerdem wurde Eisen mittels Schwefelammonium, mit Ferrocyankalium und Ammoniumrhodanid erkannt.

Organische Substanzen und farbige Grundstoffe des schwarzen Sekrets.

Die verschiedenen Untersuchungen mit dem wässerigen, alkoholischen und ätherischen Extrakt gaben ein negatives Resultat, was folgende Substanzen anbelangt: Harnstoff, Harnsäure, Dextrose usw. Man konnte aber auf die Anwesenheit fettiger Substanzen schließen, deren Natur man der kleinen Quantität wegen nicht bestimmen konnte. Dasselbe kann man von den organischen unlöslichen Substanzen sagen. Sie bestehen fast ganz aus den schwarzgefärbten Substanzen, dem Melanin.

Melanin. Um diesen Stoff in möglichst reiner Form zu gewinnen, wurde folgende Behandlung vorgenommen. Vor allem ließ man die Sepia sehr lange in Alkohol stehen. Man filtrierte sie, und der dichte, feste Niederschlag wurde mit Äther und Wasser gewaschen. Nach solcher Weise wurden die löslichen organischen Substanzen abgesondert. Dann ließ man den Niederschlag trocknen, und dann ließ man ihn in Essigsäure 24 Stunden bei gelinder Temperatur liegen, um die Eiweißstoffe abzutrennen. Man sammelte dann alles auf dem Filter und wusch es mit verdünnter Essigsäure und destilliertem Wasser, bis man eine saure Reaktion hatte. Nachdem man den Niederschlag von allen Säurenspuren befreit hatte, ließ man ihn in einer leichten Kaliumcarbonatlösung mit einigen Tropfen Lauge 21 Stunden lang in gelinder Wärme liegen. Man schüttelte dann und wann nur, damit sich der durch Alkohol niedergeschlagene Schleim löse. Unter der Wirkung der alkalischen Flüssigkeit sammelten sich auf dem Boden des Gefäßes die Pigmentkügelchen, indem sie eine dichte Schicht bildeten, welche nach der Klärung mehrmals gewaschen wurde. Es wurde die Substanz nach dem

Waschen in einen Kolben gebracht, in welchem sich eine dünne Salzsäurelösung befand, nachdem man ihn etwas erwärmt hatte. Man ließ das Ganze durch einen Tag ruhen. Die Pigmentgranulationen setzten sich wieder ab und wurden so lange gewaschen, bis die saure Reaktion verschwunden war. Endlich wurde die Substanz zuerst auf dem Wasserbade und dann im Schrank bei 100° C getrocknet. Es war ein schwarzes glanzloses Pulver, welches als chemisch rein gelten kann, da es, auf dem Platinblech verbrannt, keinen Rückstand hinterließ.

Eigenschaften.

Das Melanin der Kephalopodentinte ist Wasser, Alkohol, Äther und in verdünnten Alkalien unlöslich. Konzentrierte Kalilauge nimmt in Berührung damit eine leichte bräunliche Farbe an. Schwefelsäure färbt sich beim Erwärmen braun; die Salpetersäure gibt eine rotbraune Lösung unter Entwicklung rötlicher Dämpfe. Calciumchlorid und Chlorwasser entfärben es. Wenn es in Anwesenheit von Natronkalk erwärmt wird, entwickelt sich Ammoniak. Es ist also eine stickstoffhaltige Substanz. Im Vergleich mit anderen schon bekannten Melaninen stellt dies keine besondere Reaktion dar. Man erhält jedoch keine Eiweißreaktion. Die Sepia bildet, wie das Melanin der Geschwülste, eine schwarze, glanzlose Masse. Sie ist in den Lösungen der neutralen Salze und in verdünnten Säuren unlöslich. Sie ist teilweise in konzentrierter Essigsäure löslich. Aus den alkalischen Lösungen wird das Melanin durch Säuren niedergeschlagen, wie durch Barytwasser, Bleizucker oder durch Sättigung mit $MgSO_4$. Man kann daraus schließen, daß das Melanin der Kephalopodentinte dem Melanin der Geschwülste, der Haare, der Haut, der Chorioidea gleicht und nur durch seinen Eiseninhalt charakterisiert ist. Während man in der Tat, noch nicht sicher ist, ob die anderen Melanine, besonders die der Geschwülste, Eisen enthalten, so ist die von mir daraufhin untersuchte Sepia daran reich.

Chemische Prüfungen. Eisenuntersuchung.

Nachdem ich eine kleine Quantität des Stoffes in einer Platinschale verascht hatte, habe ich sie mit Wasser be-

handelt und die Lösung in ein Probierröhrchen gegossen. Ich fügte Salzsäure hinzu und die Reaktionen mit Ferrocyankalium und schwefelsaurem Ammonium zeigten eine bedeutende Quantität Eisen an.

Schwefeluntersuchung.

Die Substanz wird in einer Silberschale mit Kalisalpeter geschmolzen und die erhaltene weiße Masse in Wasser gelöst. Die Lösung wurde mit Salzsäure und dann mit Bariumchlorid versetzt. Der weiße, unlösliche Niederschlag von $BaSO_4$ bewies die Anwesenheit von Schwefelsäure.

Stickstoff-Bestimmung.

Eine Stickstoffbestimmung nach der Methode von Kjeldahl mit 1 g der ganz trockenen Substanz ergab in der gewöhnlichen Weise einen Gehalt von 5,6% Stickstoff.

Kohlen- und Wasserstoff-Bestimmung.

0,3704 g der mit Bleichromat verbrannten Substanz ergaben

$$C = 52,40\,\%$$
$$H = 4,02\,\%.$$

Zusammenfassung.

Die gesamten Ergebnisse meiner chemischen qualitativen und quantitativen Untersuchungen über das schwarze Kephalopodensekret sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

I. Sekret von Eledone moscata.

Wasser	40,00%
Lösliche organische Substanzen und lösliche Salze	6,35 „
Lösliche Mineralsubstanzen	4,06 „
Lösliche organische Substanzen	2,32 „
Unlösliche Mineralsubstanzen	6,67 „
Unlösliche organische Substanzen	40,60 „

II. Sekret von Sepia officinalis.

Wasser	20,00%
Lösliche organische Substanzen und lösliche Salze	19,00 „

Lösliche Mineralsubstanzen	8,50 %
Lösliche organische Substanzen	3,50 „
Unlösliche Mineralsubstanzen	15,00 „
Unlösliche organische Substanzen	34,00 „

III. Die Zusammensetzung des untersuchten Melanins, ist folgende:

C: 52,4 % H: 4,02 %
N: 5,6 % S und Fe vorhanden.

Im Vergleich mit den anderen schon bekannten Melaninen ist es durch das Eisen, das es ganz sicher enthält, charakterisiert.

Literatur.

R. Bizio, Chemische Untersuchung der Sepientinte. Giornale di Fisica 8, 1825.

Landerez, Über die Sepiatinte. Vierteljahrsschr. für prakt. Pharmacie 4, 1855.

Schwarzenbach, Die schwarze Farbe des Sepien. Idem idem 11, 1862.

Girod, Recherches chimiques sur le produit de la Sécrétion de la poche de noir chez les Cephalopodes. Compt. rend. 92, 1880.

Über die Beteiligung des elementaren Wasserstoffes an dem Stoffwechsel der Tiere.

Von

Carl Oppenheimer.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 25. Dezember 1908.)

Die Frage, ob sich der Wasserstoff in elementarer Form an den Stoffwechselvorgängen in den Organen des tierischen Körpers beteiligt, ist ernstlich bisher überhaupt noch nicht geprüft worden. Daß sich Wasserstoff neben Methan in den Ausscheidungen findet, ist eine allbekannte Tatsache, ebenso aber auch, daß er mindestens zum weitaus größten Teile bakteriellen Prozessen im Darm seine Entstehung verdankt. Die mit Abspaltung von Wasserstoff einhergehende Gärung der Kohlenhydrate, die Buttersäuregärung des Zuckers und der Milchsäure, ebenso die Bildung von Wasserstoff neben Methan bei der Zellulosegärung durch die Tätigkeit bestimmter Mikroben ist ja heute ein wohlbekanntes Gebiet geworden und so das Auftreten gasförmigen Wasserstoffes zunächst in den Darmgasen, dann aber auch in der Ausscheidung durch Haut und Lunge (Tacke)[1]) in jeder Weise aufgeklärt.

Ob aber metabolisch Wasserstoff bei der Umsetzung der Stoffe in den Geweben gebildet wird, oder ob der Körper imstande ist, die dem Wasserstoff innewohnende Energie durch seine metabolische Verbrennung auszunutzen, darüber ist, wie gesagt, nichts Sicheres bekannt, und nur wenige Hinweise finden sich in der Literatur.

---

[1]) Tacke, Über die Bedeutung der brennbaren Gase im tierischen Organismus. Inaug. Dissert. Berlin 1884. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 17, 1827.

Regnault und Reiset[1]) fanden unter dem Einfluß der Einatmung eines wasserstoffreicheren Gemisches ein Ansteigen des Sauerstoffverbrauches, das sie selbst auf eine stärkere Abkühlung und dementsprechend intensivere Atemtätigkeit des Versuchstieres zurückführen wollen.

Dieselben fanden ferner bei Versuchen an Tieren in einer wasserstoffreichen Atmosphäre eine geringfügige Abnahme der vorhandenen Wasserstoffmenge. Sie glauben indessen nicht, diesen Verlust auf einen wirklichen Verbrauch dieses Stoffes im Tierkörper zurückführen zu müssen, sondern erklären ihn durch einen Ersatz von absorbiertem Stickstoff der Gewebsflüssigkeiten durch Wasserstoff.

Demgegenüber vertreten Voit und Pettenkofer[2]) die Ansicht, daß der erhöhte Sauerstoffverbrauch darin seine Erklärung finden möge, daß der im Darm durch Gärung entstandene Wasserstoff nun in die Blutbahn übergehe und dort zu Wasser verbrannt werde, eine Ansicht, die auch neuerdings wieder Matacci[3]) vertritt.

Voit und Pettenkofer nehmen an, daß die Eigenart der Regnaultschen Versuche, nämlich die dauernde Zirkulation derselben Luft, eine gewisse Anreicherung des Blutes an Wasserstoff veranlasse, die nun zu einer Verbrennung dieses Gases führen solle. Im Gegensatz dazu finden sie bei ihren Versuchen den Wasserstoff frei in den Ausscheidungen, weil bei ihrer ständigen Erneuerung der Luft es nie zu einer stark gesteigerten Tension des Wasserstoffes im Blute kommen kann.

Unser Apparat, der eine ausreichend genaue Bilanz der eingeatmeten und ausgeatmeten Gase aufzustellen gestattet, ermöglichte es, diesem nicht unwichtigen Problem direkt experimentell näher zu treten. Er ermöglicht es ferner, die Wasserstoffmenge sehr reichlich zu nehmen, also die Gewebe unter einen sehr hohen Partialdruck zu setzen, wodurch die Bedingungen für eine etwaige Verbrennung von Wasserstoff besonders günstig gestaltet werden. Wenn man ein Tier, bei dem eine nennenswerte Wasserstofferzeugung im Darm nicht anzunehmen war, in einer Atmosphäre atmen ließ, die eine erheb-

---

[1]) Regnault u. Reiset, Annal. Physique & Chim. 73, 1850.

[2]) Pettenkofer u. Voit, Annal. Chem. Pharm. Suppl. II, 1862, 68.

[3]) Matacci, Arch. ital. d. Biol. 42, 1905.

liche und genau bekannte Menge Wasserstoff enthielt, so mußte die Endbilanz ergeben, ob sich die anfangs vorhandene Menge vermehrt oder vermindert hatte.

Als geeignetes Objekt dafür boten sich nüchterne Hunde dar. Wie ich ständig bei meinen früheren Beobachtungen zu konstatieren Gelegenheit hatte, scheiden diese Tiere auch in 24 Stunden gar keine oder nur äußerst winzige Mengen brennbarer Gase aus; ihre Darmgärung ist also sehr gering zu schätzen. Wenn man nun solche Tiere in einer sehr wasserstoffreichen Atmosphäre atmen läßt, so würde eine analytisch nachweisbare Veränderung des Wasserstoffvorrates im Atemkasten eindeutig für Verbrennung oder Neubildung des Gases im Tierkörper sprechen. Dazu ist die Genauigkeit unseres Apparates völlig ausreichend, die ich für den Stickstoff auf etwa 100 ccm berechnet habe.

Da dieser Fehler als eine der wesentlichsten Quellen die Unsicherheit der Temperaturbestimmungen, also des Totalvolumens der Kastenluft in sich schließt, so wäre der relative Fehler bei einem Wasserstoffgehalt von ca. 20 °/₀ gegenüber den 80 °/₀ Stickstoff der Atmosphäre auf etwa 25 ccm zu veranschlagen. Dazu kommt, daß man den Wasserstoff direkt bestimmt, nicht wie den Stickstoff als Rest, wobei sich alle Fehler auf den Stickstoff häufen. Allerdings hat die Explosionsmethode nach Geppert mit einem Fehler von etwa 0,03 bis 0,05 °/₀ zu rechnen, was bei 160 l einem Fehler in den Wasserstoffwerten von 50 bis 80 ccm entspricht.

80 ccm Wasserstoff sind aber gleich rund 7 mg, eine im 24stündigen Stoffwechsel eines Hundes sehr geringe Größe.

Natürlich muß die von Regnault und Reiset erwähnte Ausgleichung von Gewebestickstoff gegen Wasserstoff als Fehlerquelle ausgeschaltet werden. Dies erreicht man einfach dadurch, daß man den Versuch erst dann beginnt, wenn das Tier bereits eine Zeitlang das Gemisch geatmet hat, also die Ausgleichung vollzogen ist.

Ich habe nun zunächst eine Reihe von Versuchen an nüchternen Hunden angestellt, die in folgender Weise durchgeführt wurden. Da es mir zunächst nur darauf ankam, die Bilanz des Wasserstoffes allein festzustellen, so verzichtete ich auf einen wirklichen kompletten Respirationsversuch, d. h.

ich bestimmte weder den Sauerverbrauch noch die Kohlensäureproduktion, sondern ließ die Tiere längere Zeit (24 Stunden) in einem abgeschlossenen Raume mit einer bekannten Menge Wasserstoff respirieren und bestimmte nur die Anfangs- und Endwerte dieses Gases. Ein Versuch wurde dann komplett durchgeführt. Im einzelnen war die Versuchsanordnung folgende: Nachdem die Temperatur des Kastens und der äußere Barometerstand abgelesen war, wurde das Tier in den Kasten eingebracht und dieser, sowie das Thermobarometer verschlossen. Dann wurde mit Hilfe einer Strahlpumpe so lange evakuiert, bis der Druck um etwa 26 bis 30 cm Hg verringert war. In das so entstandene Vakuum wurde zuerst guter Sauerstoff eingelassen, so daß der Druck um 60 bis 70 mm Hg anstieg, dann der Rest an Minusdruck durch Wasserstoff aus einer Bombe ausgeglichen. Auf diese Weise erhielt ich einen Wasserstoffgehalt der Innenluft von ca. 20% ohne Verminderung des O_2-Gehaltes.

Dann wurde der Kasten versenkt und etwa 1 Stunde ventiliert, um einerseits eine Ausgleichung der Temperatur herbeizuführen, andererseits eine Ausgleichung der Gase im Körperinnern mit der umgebenden Atmosphäre. Dann wurde eine Analysenprobe der Kastenluft entnommen, darauf Manometer und Thermobarometer abgelesen, und dieser Zeitpunkt als der Beginn des Versuches angenommen. Die Kohlensäure wurde in der üblichen Weise in den Kaliventilen absorbiert und als Ersatz des verbrauchten aus einer Bombe Sauerstoff eingeleitet. Nach Ablauf der Versuchszeit (meist 24 Stunden) wurden wieder die nötigen Ablesungen gemacht, und nachher eine Analysenprobe entnommen. In einer Probe des Gases wurde über Hg die Kohlensäure bestimmt, eine andere Probe wurde mit einer Kalikugel von Kohlensäure befreit, und im Geppertschen Apparat über Hg mittels Verpuffung der Wasserstoff bestimmt. Eine jedesmal vorgenommene Kontrolle mit KOH ergab die Abwesenheit von Methan. In einigen Fällen wurden diese Analysen durch eine weitere Analyse im neuen Zuntzschen Apparat über Wasser mit Explosion in der Explosionspipette kontrolliert.

Aus den Werten für das kohlensäurefreie Gas wurde durch Umrechnung der Wasserstoffgehalt des Gesamtgases und mit

den aus den Werten für Druck und Temperatur berechneten Volumina im Anfange und am Schluß des Versuches der absolute Gehalt an Wasserstoff bestimmt.

Bei nüchternen Hunden fand sich konstant eine sehr kleine Erhöhung des Anfangsgehaltes an Wasserstoff, 20 bis in einem Falle 70 ccm. Da 1 ccm Wasserstoff rund 0,09 mg wiegt, so handelt es sich um Werte von 2 bis 7 mg Wasserstoff. Ob diese geringfügigen Differenzen auf die oben erwähnten Fehler, die zufällig immer in derselben Richtung lagen, oder auf eine Wasserstoffgärung im Darm zurückzuführen sind, wird sich kaum entscheiden lassen. Am wahrscheinlichsten ist es, anzunehmen, daß sie zum größten Teil durch die Volumabnahme der Kastenluft infolge der Zunahme der Lauge (s. d. unten folg. Auseinandersetzungen) bedingt sind. Diese wäre auf etwa 90 ccm = 20 ccm H_2 zu schätzen. Es käme auch noch folgende Möglichkeit in Betracht. Im Anfang des Versuches enthielt vielleicht doch der Darm noch eine gewisse Menge Gase, die sich nun vor den ersten Ablesungen mit dem Wasserstoffgehalt des Kastens ausgeglichen hätten. Im Laufe der 24 Stunden kollabiert nun der Darm ganz, und nun treten diese kleinen Wasserstoffmengen wieder in die Kastenluft über. Indessen scheinen mir Spekulationen über diese geringfügigen Mengen müßig.

Jedenfalls aber kann man mit Sicherheit annehmen, daß selbst bei so hohen Wasserstofftensionen im Blute der Versuchstiere eine Verbrennung dieses Gases im Stoffwechsel nicht eintritt. Eine solche Verbrennung von Wasserstoff würde, wie ohne weiteres ersichtlich, durch Erhöhung des Sauerstoffkonsums ohne Steigerung der Kohlensäureproduktion den RQ herabsetzen. Umgekehrt würde ein Freiwerden größerer Mengen von Wasserstoff aus organischer Bindung Sauerstoff im Stoffwechsel freigeben, der zu metabolischen Verbrennungsprozessen benutzt werden und damit, wie auch schon Pettenkofer und Voit angeben, den RQ über die Norm steigern könnte. Beim Hunde liegt also jedenfalls für solche Annahme gar kein Grund vor. Selbst bei Tieren, die mehrere Tage gehungert hatten, fand keine Verbrennung von Wasserstoff in den Geweben statt, und die scheinbare Produktion an diesem Gase bewegt sich ebenfalls in so engen Grenzen, daß ihr gar keine Bedeutung

zuzumessen ist. Beim Gewebsstoffwechsel des Hundes spielt also der elementare Wasserstoff gerade so wenig eine Rolle, wie der elementare Stickstoff.

Den Tieren ist die Energie, die im Wasserstoff gebunden ist, für eine direkte Benutzung unerreichbar. Es muß dies um so mehr betont werden, als der Satz durchaus nicht für alle Lebewesen gilt. Gerade in neuerer Zeit sind eine Reihe von Bakterien bekannt geworden, die in der Lage sind, den Wasserstoff sich nutzbar zu machen.

Diese Anpassung ist ja für den Kreislauf des Stoffes von sehr großer Bedeutung, da sie die ungeheuren Mengen Wasserstoff, die in der Natur durch Gärungsprozesse entstehen, wieder in den allgemeinen Nutzbereich zurückführt, so daß auch diese Energie durch Verbrennung in Zellen ausgenutzt werden kann.

Das Säugetier aber ist, wie gesagt, unfähig, sich dieser Energiequelle zu bedienen. Beim Hunde läßt sich dies leicht entscheiden. Ich habe nun außerdem noch einige Versuche an Kaninchen gemacht, die ich zwecks möglichster Ausschaltung der Darmgärung erst einige Wochen mit Weizen fütterte und dann hungern ließ. Die Resultate waren aber wechselnd, so daß diese Versuche keine rechte Entscheidung bringen. Ich fand zwar einmal bei einem Nüchterntier in Wasserstoffatmosphäre gar keine Änderung des Wasserstoffgehaltes, in anderen Fällen aber schien die Darmgärung doch nicht unterdrückt, und es ergeben sich beträchtliche Zuwachswerte sowohl bei Respirationsversuchen in gewöhnlicher Luft, als auch in Wasserstoffatmosphäre. Versuche, die Tiere durch langes Hungern mit Maulkorb so weit zu bringen, daß der Darm wirklich leer wurde, schlugen mir fehl, da die Tiere alle starben.

Auch hier ergibt sich jedenfalls nicht der geringste Anhaltspunkt, daß etwa Wasserstoff im Stoffwechsel verbraucht würde. Wir können also mit völliger Sicherheit annehmen, daß eine Beteiligung elementaren Wasserstoffs am Stoffwechsel der untersuchten Tiere nicht stattfindet.

Ich möchte die Gelegenheit benutzen, um mich mit den Ausstellungen, die Krogh (Diese Zeitschr. 7, 24) an meiner Methodik gemacht hat, sachlich auseinanderzusetzen.

Krogh gibt seine Resultate wie Regnault in Prozenten des gesamten verbrauchten Sauerstoffs an, während ich es vor-

gezogen habe, die gefundenen Stickstoffdifferenzen direkt in Kubikzentimetern zu geben. Krogh schließt daran eine Kritik meiner Behauptung, daß die Differenzen in der Stickstoffbilanz mit dem Sauerstoffbedarf in keinem inneren Zusammenhange stehen, und meint im Gegenteil, daß der Sauerstoffverbrauch als das Maß des Gesamtstoffwechsels die beste Relation abgibt. Dem kann ich nach wie vor nicht beistimmen. Wenn man, wie wir beide übereinstimmend tun, die scheinbaren Stickstoffwerte nicht auf wahre Änderungen, sondern auf Fehler zurückführt, so entfällt jede Beziehung zu Stoffwechselvorgängen, und es ist dann das Einleuchtendste, diese Zahlen einfach in absoluten Werten anzugeben, resp. sie auf Tiergewicht zu beziehen, um sie zu vergleichen. Wenn sie aber wahre Werte darstellten, so wäre das richtigste Maß der Gesamtstickstoffumsatz, der seinerseits in keinem direkten Verhältnis zum Sauerstoffverbrauch stehen muß, wie ich des näheren ausgeführt habe. Damit entfällt aber eben auch eine direkte Beziehung der Stickstoffdifferenzen zum Sauerstoffverbrauch. Für die kleinen Tiere, besonders die Mäuse, bilden sich sogar gegenüber den größeren Tieren, die ich benutzt habe, Differenzen heraus, die Kroghs Zahlen günstiger als die meinen erscheinen lassen, weil eben bei Mäusen mit ihrer großen Oberfläche der Sauerstoffbedarf pro Kilo viel größer ist, als bei Hunden. Setzt man also diesen in den Nenner, so werden dadurch tatsächlich die Kroghschen Zahlen verbessert, während sie durch die angeführte Vergleichung in relativen, auf Gewicht bezogenen Werten sich mehr den meinen nähern. Es stützt dies also meine Angabe, daß die Kroghschen Werte relativ etwa in derselben Größenordnung liegen, wie die meinen. Sie sind eben nur eine Funktion des Apparates, nicht der Umsetzungen des Tieres.

2. Einer der prinzipiell wichtigsten und interessantesten Einwände Kroghs gegen die Genauigkeit meiner Zahlen ist die mangelnde Berücksichtigung der Volumabnahme des Tieres einerseits, der Volumzunahme der Lauge andererseits. Wie aus S. 437 meiner Arbeit hervorgeht, habe ich diese Frage durchaus nicht übersehen, vielmehr genau dieselben Berechnungen und Volummessungen der Lauge wie K. angestellt, die auch zu denselben zahlenmäßigen Resultaten ge-

führt haben. Ich bedauere also, daß ich diese Berechnung nicht auch, wie K. es getan, mit veröffentlicht habe. Richtig ist die Überlegung sicher, aber welche Höhe können bei meinen Versuchen die Fehler erreichen? Krogh gibt selbst an, daß für 100 l Kohlensäure eine faktische Volumabnahme des Tieres von rund 15 ccm bei Stärkeverbrennung entsteht, also eine Volumzunahme des ursprünglich vorhandenen Gasgemisches um denselben Wert, der nun eine Zunahme des Laugenvolums um 116 ccm für 100 l CO_2, also eine entsprechende Abnahme des Volums der Kastenluft gegenübersteht. Bei Anerkennung dieser Rechnung hätte man also für 100 l Kohlensäure mit einer faktischen Abnahme von 116 — 15 = 101 ccm für Kohlenhydratverbrennung zu rechnen. Für reine Fettverbrennung fällt die Volumabnahme der Gewebe fort, es wäre also die totale Volumzunahme der Lauge mit 116 ccm bei 100 l Kohlensäure zu rechnen. Daß sich für Eiweißnahrung sichere Werte überhaupt nicht aufstellen lassen, gibt K. selbst an. Man hat demnach für einen Teil meiner Versuche an Hunden mit sehr reicher Fleischnahrung keine sicheren Grundlagen für die Aufstellung der Korrektur. Bei einer Kohlensäureproduktion von rund 80 l in einem langen Nüchternversuch mit reiner Fettverbrennung, erreicht der Fehler mit 93 ccm Volumenabnahme der Kastenluft entsprechend einer Korrektur von 74 ccm für den Stickstoff seinen höchsten Wert. Durch die mangelnde Berücksichtigung dieser Korrektur waren, wie K. zeigt, meine Resultate etwas verbessert worden. Meine Weglassung der Volumverminderung durch Zunahme der Lauge hat in der Tat eine Stickstoffvermehrung bis zum Höchstbetrage von $0,8 \times 93 = 74$ ccm vorgetäuscht.

3. Die Frage der Wasserdampfspannung ist sicher nicht ohne Bedeutung. Ich habe durch feuchtes Aufwischen des Kastens vor dem Versuch, sowie häufig durch Dampfeinlassen in den Arbeitsraum versucht, die Luft möglichst zu sättigen, jedoch wird diese Sache nicht leicht zur Zufriedenheit zu erledigen sein. Hier liegt also sicher wieder ein Fehler, der mit der Größe des Kastens ansteigt.

4. Die Angriffe Kroghs gegen unsere Luftanalyse sind gänzlich unberechtigt. Seit Jahrzehnten sind im Zuntzschen Institut viele Tausende von Analysen ausgeführt worden, die man doch nicht mit einem Federstrich als falsch hinstellen

kann. Wenn man die Gase über saurem Wasser in den Sammelröhren so auffängt, daß sie nur mit der Oberfläche der Flüssigkeit in Berührung kommen, und beim Aufbewahren kein Wasser mehr in den Röhren sich befindet, ferner der Kohlensäuregehalt 4 % nicht übersteigt, so sind keine Fehler der Kohlensäurebestimmung gegenüber der Analyse über Quecksilber nachweisbar. Außerdem würde der von Krogh vermutete Fehler im umgekehrten Sinne liegen, wie mein Durchschnittsfehler, der ein geringes Defizit aufweist, denn er sollte ein Mehr an Stickstoff vortäuschen.

Die Anmerkung von K. zu demselben Gegenstand, daß die Bestimmung der Kohlensäure aus der ausgepumpten Lauge vielleicht auch über Wasser gemacht wäre, beruht auf einer unbegründeten Vermutung. Diese Kontrollen sind mit der Blutgaspumpe und dann über Quecksilber gemacht worden.

5. Zu den im wesentlichen unberechtigten Vorwürfen gehören auch die gegen das bei uns benutzte Thermobarometer. Ich habe nie behauptet, daß dieses Instrument nun eine ideale Methode zur Messung der Temperatur wäre. Ich bleibe aber unbedingt dabei, daß es eine wesentliche Verbesserung nicht nur gegen die ganz ungenaue Messung im Wasser, sondern auch gegen die im Kasten mittels eines einfachen Thermometers ist. Man kann in einem Kasten, in dem sich ein Tier als Wärmequelle befindet, selbst bei guter Ventilation keine sichere Messung der Mitteltemperatur erzielen, wie Voit und Pettenkofer gegen Seegen direkt nachgewiesen haben. Daß Zinn irgendwie beträchtliche Mengen Sauerstoff in den kurzen Stunden des Versuches absorbieren soll, ist eine gänzlich beweislose Behauptung, die im übrigen von mir experimentell widerlegt worden ist, da ich mehrfach das Thermobarometer nach dem Versuche noch tagelang geschlossen ließ, und seine Änderungen mit Außentemperatur und Barometer verglich, ohne auf einen solchen Fehler zu stoßen. Daß das Thermobarometer der Wand des Kastens zu sehr anliegt, ist ein zweifelloser Mißstand, dem ich bei unserem neuen Apparate (cfr. Biochem. Zeitschr. 14) abzuhelfen bestrebt war. Ich bleibe dabei stehen, daß das Instrument von allen einfacheren Vorrichtungen jedenfalls die besten Resultate liefert, obzwar natürlich nicht ideale.

6. Vollkommen willkürlich ist ferner die Einschätzung der

Fehler, die beim Einbringen des Tieres in den Apparat sich einstellen. Krogh gibt an, die Zeit, die vom Einbringen des Tieres bis zur Schließung des Kastens verstreicht, soll eine Minute betragen, was natürlich kolossale Fehler ergeben müßte. In Wirklichkeit dauerte dies vielleicht zwei Sekunden. Ein Diener hielt das Tier, ein anderer den Deckel. Der eine schob das Tier hinein, der andere schob den Deckel an und in demselben Augenblick schloß ich selbst die Quetschhähne an den Schläuchen, und die Absperrung war vollzogen. Die so entstandenen Fehler können nur minimal sein, und die Erörterungen, die K. daran knüpft, sind gegenstandslos,

Aus seinen Einwänden zieht K. das Fazit, daß ich die meisten Fehler hätte vermeiden können, wenn ich nach der Seegenschen Methode den Versuch erst eine Weile zur Ausgleichung hätte gehen lassen, und dann in einem bestimmten Moment durch Ablesung der Daten und Probeentnahme den eigentlichen Versuch begonnen hätte. Das klingt sehr plausibel, ist aber doch nicht so, wie K. annimmt. Zwar vermeidet man einige Fehler, macht aber neue dafür.

Besonders kompliziert gestaltete sich bei unserem älteren Apparat die Probeentnahme aus der Lauge zur Kohlensäurebestimmung. Hier muß aus jedem Ventil eine Probe entnommen und durch Wasser ersetzt werden, um in dieser Anfangsprobe das Verhältnis vom Gesamt-K zum gebundenen K zu bestimmen. Das kostet Zeit, und während dieser Zeit gibt es notwendigerweise wieder Fehler. Wo die Kohlensäurebestimmung wie bei den hier beschriebenen Wasserstoffversuchen nicht in Betracht kam, habe ich dies Verfahren angewendet; es war ja ohnehin in diesem Falle wegen der künstlichen Veränderung der Gasmischung notwendig. Diesen Hauptübelstand, die äußerst unbequeme Probeentnahme der Lauge, haben wir bei der Umgestaltung des Apparates verbessert, so daß dies nunmehr wirklich kein Hindernis mehr wäre, und wir werden dies Verfahren in geeigneten Fällen zur Anwendung bringen.

Von der Aufdeckung meiner Fehler durch Krogh bleibt also nicht sehr viel übrig. Die Zunahme der Lauge durch die Kohlensäure und die mangelhafte Gasanalyse sind die einzig greifbaren, und davon ist der letztere zurückzuweisen. Daß die

Fehler vorhanden sind, habe ich ja nie geleugnet, und habe ja auch mit aller Bestimmtheit die Abweichungen nicht als faktische, sondern eben als Fehler hingestellt. Ich bin Krogh sehr dankbar, daß er sich so große Mühe gegeben hat, die zahllosen kleinen Fehler, die sich beim Arbeiten mit einem solchen großen Apparat einschleichen, näher zu präzisieren. Er hat sie bei den winzigen Dimensionen seiner Apparate leichter vermeiden können, wobei ich im übrigen nicht einen Moment zögere, die Genialität seiner Versuchsanordnungen anzuerkennen. Vorläufig aber muß ich sagen: daß meine Fehler sich bei tausendfach so schweren Tieren in derselben Größenordnung bewegen, wie die von Krogh, das kann kein objektiv Urteilender leugnen.

Protokolle.

Lauf. Nr. 1.

Versuch vom 13. Mai 1907.

Versuchsobjekt: Hund.

Gewicht: 8400; Dauer: 24 h.; Ernährung: nüchtern.

Anfangswerte:	Temp. 17,3,	Bar. corr. 759,8,	Man. + 1,42,	Thermobar. — 2,29
Endwerte:	„	„	„ + 15,84,	„ + 1,80

Anfangsvol. 159,6 l bei 17,3° und 763,51 mm Hg = 147,42 l reduziert
Endvol. 159,6 l „ 17,3° „ 773,84 „ „ = 148,85 l „

Analyse: H vorher 13,86 %
H nachher 13,69 „

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden	20,43 l
Nachher „	20,46 l
	+ 0,03 l

Lauf. Nr. 2.

Versuch vom 28. Mai 1907.

Versuchsobjekt: Hund.

Gewicht: 7300; Dauer: 23 h.; Ernährung: nüchtern.

Anfangswerte:	Temp. 14,2,	Bar. corr. 759,6,	Man. — 1,9.	Thermobar. — 5,4
Endwerte:	„	„	„ — 0,6,	„ — 7,33

Anfangsvol. 160,7 l bei 14,2° und 763,1 mm Hg = 150,20 l
Endvol. 160,7 l „ 14,2° „ 764,13 „ „ = 150,58 l

Analyse: Anfangsgas 20,63 % H_2
Endgas 20,53 „ „

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden 30,996 l
Nachher „ 31,018 l
+ 0,022 l

Bemerkungen: In den 31,018 l Wasserstoff (Endgas) sind 98 cm³ Wasserstoff aus der Probeentnahme eingerechnet, die bei diesem Versuch irrtümlich vor der Manometerablesung erfolgt ist. Durch Analyse wurde 30,92 l gefunden.

Lauf. Nr. 3.

Versuch vom 12. Juni 1907.

Versuchsobjekt: Hund.

Gewicht: 6550; Dauer: 24 h.; Ernährung: nüchtern.
Anfangswerte: Temp. 17,7. Bar. corr. 761,0, Man. — 6,21, Thermobar. — 2,62
Endwerte: „ „ „ + 1,46, „ + 0,4
Anfangsvol. 161,5 l bei 17,7° und 757,4 mm Hg = 146,62 l
Endvol. 161,5 l „ 17,7° „ 762,05 „ „ = 147,55 l
Analyse: Anfangsgas 20,08 % H_2
Endgas 19,99 „ „

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden 29,44 l
Nachher „ 29,49 l
+ 0,05 l

Lauf. Nr. 4.

Versuch vom 3. Juli 1907.

Versuchsobjekt: Hund.

Gewicht: 6500; Dauer: 24 h.; Ernährung: nüchtern (3 Tage).
Anfangswerte: Temp. 14,6, Bar. corr. 753,8, Man. — 3,05, Thermobar. — 1,10
Endwerte: „ „ „ + 4,95, „ — 1,80
Anfangsvol. 161,5 l bei 14,6° und 751,85 mm Hg = 148,77 l
Endvol. l „ 14,6° „ 760,25 „ „ = 150,46 l
Analyse: Anf. 17,31 % H_2
Ende 17,14 „ „

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden 25,75 l
Nachher „ 25,79 l
+ 0,04 l

Lauf. Nr. 5.

Versuch vom 10. Juli 1907.

Versuchsobjekt: Hund.

Gewicht: 6500; Dauer: 24 h.; Ernährung: nüchtern.
Anfangswerte: Temp. 18,0, Bar. corr. 763,5, Man. + 13,12, Thermobar. — 1,32
Endwerte: „ „ „ + 3,50, „ — 4,4

Anfangsvol. 161,5 l bei 18,0° und 777,94 mm Hg = 151,53 l
Endvol. l „ 18,0° „ 771,4 „ „ = 149,83 l
Analyse: Anf. CO_2 = 0,12
H_2 = 17,35
Ende CO_2 = 0,21
H_2 = 17,63 (Geppert) / 17,56 (üb. aq.) } Mittel 17,59.

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden 26,29 l
Nachher „ 26,36 l
+ 0,07 l

Lauf. Nr. 6.

Versuch vom 16. Oktober 1907.

Versuchsobjekt: Zwei Kaninchen.

Gewicht: 5500; Dauer: 24 h.; Ernährung: vorher einige Tage Weizen, 1 Tag Hunger.
Anfangswerte: Temp. 16,00, Bar. corr. 756,4, Man. —2,50, Thermobar. — 3,23
Endwerte: „ „ „ —0,63, „ +7,60
Anfangsvol. 162,5 l bei 16,00° und 757,13 mm Hg = 149,72 l
Endvol. 162,5 l „ 16,00° „ 748,17 „ „ = 147,96 l
Analyse: Anf. CO_2 = 0,16 %
H_2 = 23,40 „
Ende CO_2 = 0,08 „
H_2 = 24,38 „

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden 35,04 l — Methan gebildet = Null.
Nachher „ 36,07 l
+ 1,03 l

Bemerkungen: Ob der erhebliche H-Zuwachs einem reellen Zuwachs durch Darmgärung allein entspricht, ist angesichts des auffallend kleinen CO_2-Wertes der Luftanalyse nicht absolut sicher. Die H_2-Bestimmung geschah in einer von CO_2 vorher befreiten Gasprobe. Wenn der CO_2-Wert also etwas höher, nämlich wie meist etwa 0,2—0,3 % wäre, würde der H dadurch geringer werden, bei 0,3 % = 35,99. Doch bleibt auch dann noch ein reeller Zuwachs von 0,9 l H_2.

Kompletter Respirationsversuch.

Lauf. Nr. 7.

Versuch vom 21. November 1907.

Versuchsobjekt: Zwei Kaninchen.

Gewicht: vorher 4000, nachher 4000 (nicht ganz genau, aus den Gew.-Änd. interpoliert); Dauer: 24 h.; Ernährung: 6 Tage Milch, 2 Tage Hunger, im Versuch desgl.

Anfangswerte: Temp. 12,4, Bar. corr. 773,5, Man. + 12,6, Thermobar. + 23,5
Endwerte: „ „ „ + 8,7, „ + 18,0
Anfangsvol. 163,4 l bei 12,4° und 762,6 mm Hg = 154,26 l
Endvol. 163,4 l „ 12,4° „ 764,2 „ „ = 154,58 l

Analyse

Anfang	Ende
CO_2 = 0,265 %	0,20 %
O_2 = 24,365 „	22,14 „
N_2 = 55,71 „	58,04 „
H_2 = 19,66 „	19,62 „
CH_4 = „	0,0 „
100,00 %	100,00 %

O_2 (Schluß) nach Geppert 22,11 %
N in O = 7,40 %
(wohl etwas zu hoch).

Sauerstoffbilanz.

Vorher vorhanden 37,59 l
Nachher „ 35,22 l = 3,37 l
3,37 l
aus Gasom. 74,4 Kilo bei 12° und 104,63 Thb. = 71,09 l
74,46 l
davon ab N_2 im O_2 = 5,26 l
5,26 l
Nettosauerstoffverbrauch = 69,20 l
= 0,721 per Kilo und Stunde.

Kohlendioxydbilanz.

Vorher vorhanden 0,41 l Aus Lauge 63,12 l Total 63,02 l RQ = 0,91
Nachher „ 0,31 l
— 0,10 l

Stickstoffbilanz.

Vorher vorhanden 85,94 l N_2 aus O_2 (7,4 %) = 5,26 l Fehler = — 1,48 l
Nachher „ 89,72 l
3,78 l

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden 30,33 l Methan gebildet = Null.
Nachher „ 30,33 l
Null l

Bemerkungen: Der scheinbare, sehr große Stickstoffehler liegt höchstwahrscheinlich in einer falschen Sauerstoffanalyse. Eine Analyse des O aus der Bombe ergab nur 6,05 % N (nach Loewys Methode, also vermutlich auch noch etwas zu hoch). Es würde sich dadurch der

Sauerstoffverbrauch auf ca. 70 l erhöhen, was für die Wasserstoff-Frage gänzlich ohne Belang ist.

Beispiel eines Nüchternversuches ohne Wasserstoffzusatz.

Lauf. Nr. 8.

Versuch vom 5. Dezember 1907.

Versuchsobjekt: Zwei Kaninchen.

Gewicht: vorher 3935, nachher 3815; Dauer: 24 h.; Ernährung: vorher Milchdiät, 1 Tag Hunger, nichts im Kasten.

Anfangswerte:	Temp. 23°,	Bar. corr. 750,8,	Man. Null,	Thermobar Null	
Endwerte:	„	„	„ — 13,9,	„	— 0,4

Anfangsvol. 163,1 l bei 23° und 750,8 mm Hg = 144,84 l
Endvol. 163,1 l „ 23° „ 747,3 „ „ = 142,16 l

Analyse

	Anfang	Ende
CO_2 =	0,08 %	0,50 %
O_2 =	20,90 „	18,29 „
N_2 =	79,02 „	81,07 „
H_2 =	„	0,14 „
CH_4 =	„	„
	100,00 %	100,00 %

N in O = 6,05 %.

Sauerstoffbilanz.

Vorher vorhanden 30,20 l
Nachher „ 26,00 l = 4,20 l
aus Gasom. 76,37 Kilo bei 10° und 106,98 Thb. = 72,99 l
77,19 l
davon ab N_2 im O_2 = 4,42 l
4,42 l
Nettosauerstoffverbrauch = 72,77 l
= 0,788 per Kilo und Stunde.

Kohlendioxydbilanz.

Vorher vorhanden 0,116 l Aus Lauge 63,11 l Total 63,56 l RQ = 0,873
Nachher „ 0.565 l
0,450 l

Wasserstoffbilanz.

Vorher vorhanden Null — Methan gebildet = Null.
Nachher „ 0,200 l
Zuwachs 200 ccm.

Untersuchungen über den Blutzucker V.

Der Zuckergehalt der Blutkörperchen.

Von

P. Rona und L. Michaelis.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 30. Dezember 1908.)

Während der Gehalt der Blutflüssigkeit an Traubenzucker seit langer Zeit bekannt ist, sind die Angaben über einen etwaigen Gehalt der Blutkörperchen an Zucker sehr spärlich, und wo sie gemacht sind, in negativem Sinne.[1]) Die Ursache für die ungenügende Bearbeitung dieser Frage liegt darin, daß die bisherigen Methoden der Zuckerbestimmung bei der Anwendung auf die Blutkörperchen den größten Schwierigkeiten begegnen. Die meisten Methoden vermeiden es (Alkoholmethode, die Methoden von Abeles, Schenck), den Inhalt der Blutkörperchen vor der Enteiweißung in Lösung zu bringen; die Blutkörperchen werden in toto koaguliert, ohne daß ihr Inhalt vorher gründlich ausgelaugt wird. Bei der von uns angegebenen Enteiweißung durch Adsorption werden nun die Blutkörperchen zunächst aufgelöst, und daher schien uns diese Methode zum Studium der Frage über den etwaigen Zuckergehalt der Blutkörperchen besonders gut geeignet.

---

[1]) J. G. Otto, Über den Gehalt des Blutes an Zucker und reduzierenden Substanzen unter verschiedenen Umständen. Pflügers Arch. 35, 467, 1885. E. Abderhalden, Zur quantitativen Analyse des Blutes. Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 521, 1897 u. 25, 67, 1898. O. Hammarsten sagt in seinem Lehrbuch der physiol. Chem. 6. Aufl. 1907, 239: „Der Zucker gehört, wie es scheint, nur dem Serum und nicht den Blutkörperchen an".

Wir stellten uns deshalb die Aufgabe, nach diesem Verfahren den Inhalt der Blutkörperchen auf Zucker zu untersuchen.

Die Ausführung der Enteiweißung von Serum oder Plasma wie von Blut haben wir an früherer Stelle genau angegeben.[1]) Die Enteiweißung der Blutkörperchenlösung gestaltet sich im Prinzip ebenso wie die des Blutes: Die Blutkörperchen werden $^3/_4$ Stunden mit 3000 Touren pro Minute abzentrifugiert, mit ClNa-Lösung wiederholt gewaschen und möglichst weitgehend zusammenzentrifugiert, mit bekannten Mengen von destilliertem Wasser in einen vorher tarierten Kolben gespült und ihre Menge durch Wägung festgestellt. Dann werden etwa je 50 g Blutkörperchen auf 2000 ccm mit Wasser aufgefüllt. Zu der lackfarbenen Flüssigkeit wird eine auszuprobierende Menge Eisenhydroxydlösung zugegeben, dann noch eine geringe Menge (ca. 10 g) eines Elektrolyten, wozu man am besten ein Sulfat wählt, weil die zweiwertigen Anionen gegen das kathodische Eisenhydroxyd viel wirksamer sind als die einwertigen. Man kann zwischen verschiedenen Sulfaten wählen; wir halten aber, wenn nicht besondere Gründe es verbieten, im allgemeinen $MgSO_4$ für das beste, weil es nachher wegen seiner großen Löslichkeit das Einengen auf sehr kleine Volumina ermöglicht. Zu den Gründen, die das $MgSO_4$ für unangebracht erscheinen lassen, gehört die nachträgliche Vergärung mit Hefe, welche durch Mg sehr gehemmt wird. Wir benutzten daher in diesen Fällen die Sulfate von K, Na oder Zn. Die nachträgliche Vergärung wird bei genügender Verdünnung durch K und Na nicht gestört, durch Zn dadurch ermöglicht, daß sich dieses durch Soda leicht entfernen läßt. Der Zusatz von Eisenlösung soll so weit getrieben werden, daß ein abfiltriertes Pröbchen nur noch ganz wenig Hämoglobin enthält. Dann wird die Flüssigkeit durch mehrere sehr große Faltenfilter abfiltriert und ein möglichst großer aliquoter Teil weiter verarbeitet. Jetzt wird die Entfernung des Hämoglobins durch nochmaligen Zusatz von kleineren Mengen Eisenlösung ohne Schwierigkeit beendigt, wieder ein möglichst großer aliquoter Teil abfiltriert, das nun wasserklare, eiweißfreie Filtrat bei leicht essigsaurer Reaktion auf ein möglichst

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 7, 329, 1908, 13, 121 (mit B. Oppler) 14, 476, 1908.

kleines Volumen eingeengt, derart, daß der zugegebene Elektrolyt noch gerade ganz in Lösung bleibt, und polarisiert.[1])

Trotz des zweimaligen Verlustes an Material gelingt es meist leicht, $^{3}/_{4}$ der gesamten Blutkörperchenmenge wieder zu gewinnen. Die Methode ist nicht ganz so schematisch einfach wie beim Serum, und man muß die Mengen der notwendigen Eisenhydroxydlösung (die etwa die 7 bis 8 fache Gewichtsmenge der angewandten Blutkörperchenmenge beträgt) ausprobieren; jedoch ist es uns niemals begegnet, daß sich die Enteiweißung nicht hätte glatt durchführen lassen.

Wir geben ein Beispiel, wie eine derartige Bestimmung sich gestaltet:

69 g gewaschene Blutkörperchen werden auf ein Volumen von 3390 ccm gebracht, worunter 10 g $ZnSO_4$ und 400 ccm zugesetzte Eisenlösung inbegriffen sind. Hiervon werden durch Filtration wiedergewonnen 2660 ccm, welche noch eine Spur Hämoglobin enthalten. Es werden

---

[1]) Kontrollversuche zeigten, daß die Drehung $^{1}/_{2}$ $^{0}/_{0}$iger Traubenzuckerlösungen in destilliertem Wasser und in fast gesättigter Lösung von $MgSO_4$ und $ZnSO_4$ völlig gleich ist. Eine ev. vorhandene Wirkung des zugesetzten Elektrolyten, wie auch die der Säure auf die Drehung wurde durch Kontrollversuche genau geprüft und in Übereinstimmung mit den in der Literatur vorhandenen Angaben gefunden, daß sie diese nicht oder nicht in irgendwie nennenswerter Weise beeinflussen. Vgl. hierüber u. a. E. Jungfleisch und L. Grimbert. Sur le sucre interverti. Compt. rend. 108, 144. Ullek, Zur Kenntnis der Kohlenhydrate, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 15, 15. Chem. Centralbl. 1892, 433. E. Rimbach, Zum Verhalten optisch aktiver Körper in Gemischen zweier Lösungsmittel. Zeitschr. f. physikal. Chem. 9, 689 [706], 1892, R. Pribram, Über den Einfluß der Gegenwart inakt. Substanzen auf die polaristrobometr. Best. des Traubenzuckers. Monatsh. d. Chem. 9, 395, 1889. N. Wender, Über den Einfluß inakt. Substanzen auf das Drehungsvermögen sehr verd. Traubenzuckerlösungen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 2200, 1891. Heinrich Trey, Ein weiterer Beitrag zur Birotation der Glykose. Zeitschr. f. physikal. Chem. 22, 424, 1897. E. Bornträger, Über die Best. des Zuckers und über die polarimetr. Unters. bei Süßweinen. Zeitschr. f. anal. Chem. 1898, 144 [171]. J. de Kowalski und P. Tomartschenko, Influence des sels sur le pouvoir rotat. des sucres. Arch. Sc. phys. nat. Genève [4], 11, 294. A. Rosenheim und H. Itzig, Über einige kompl. Salze der Weinsäure und Apfelsäure und ihr spez. Drehungsvermögen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 3439, 1900. Vgl. hingegen die Wirkung der Alkalien und der alkalischen Salze: Lobry de Bruyn und v. Ekenstein, Action des alcalis sur les sucres. Rec. d. travaux chim. des Pays-Bas 15, 92. Vgl. auch H. Großmann, Über die Bedeutung von Bleisalzen für die polarimetr. Unters. des Harns und der Gewebssäfte. Diese Zeitschr. 1, 339, 1906.

hierzu 150 ccm halbverdünnte Eisenlösung zugefügt. Das nunmehr hämoglobin- und eiweißfreie Filtrat (2580 ccm) wird auf 24 ccm eingeengt und polarisiert. Gefunde Drehung beträgt 0,270°. Daraus berechnet sich der Zuckergehalt pro 100 g Blutkörperchen zu

$$0{,}270 \cdot \frac{24 \cdot 2810 \cdot 3390 \cdot 100}{100 \cdot 2580 \cdot 2660 \cdot 69}\ \mathrm{g} = 0{,}130\ \mathrm{g}.$$

Nach der Vergärung war die Drehung = 0,00°.

Wir untersuchten auf diesem Wege den Zuckergehalt von sieben verschiedenen Hundeblutproben direkt nach der Entnahme des Blutes aus der Carotis unter Zugabe von FNa, und zwar bestimmten wir in jedem Falle den Zuckergehalt an zwei verschiedenen Portionen des Plasmas, an zwei verschiedenen Portionen des Blutes und an den gesamten Blutkörperchen, die von den Plasmaproben abzentrifugiert waren. Diese Versuche hatten folgendes Resultat:

Tabelle I.[1])

	Gefundener Zucker in 100 ccm		Blutkörperchen	
	Blut	Plasma	in 100 g	in 100 ccm
Hund I	0,169 g 0,164 g	0,186 g 0,178 g	0,077 g	0,085 g
Hund II	0,170 g 0,184 g	0,196 g 0,205 g	0,130 g	0,143 g
Hund III	0,154 g 0,154 g	0,169 g 0,171 g	0,098 g	0,108 g
Hund IV	0,168 g 0,185 g	0,186 g 0,173 g	0,167 g	0,183 g
Hund V	0,223 g 0,216 g	0,284 g 0,279 g	0,083 g	0,091 g
Hund VI	0,193 g 0,198 g	0.179 g 0,175 g	0,119 g	0,130 g
Hund VII	0,103 g 0,094 g	0,115 g 0,116 g	0,047 g	0,052 g
Hund VIII	0,108 g 0,106 g	0,125 g 0,120 g	0,572 g	0,063 g

Bevor wir aber in den Folgerungen aus diesem Befund weiter gehen, müssen wir uns vergewissern, daß der Zucker, den wir in den Blutkörperchen zu finden glauben, nicht auf die zwischen den Blutkörperchen zurückbleibenden Serumreste zu beziehen ist. Diese Menge Serum kann bei der Art, wie wir die Blutkörperchen gewannen — Zentrifugieren bei einer

[1]) Jede Zahl dieser Tabelle ist das Ergebnis einer besonderen Bestimmung; nur die letzte Kolonne ist aus der vorletzten berechnet unter der Annahme des spez. Gew. der Blutkörperchen = 1,1.

sehr hohen Tourenzahl, Waschen mit ClNa-Lösung — auf alle Fälle nur gering sein. In der Tat zeigte das Waschwasser bei Stichproben nur $^{1}/_{2}$ bis 1 pro Mille Eiweiß; die zwischen den Blutkörperchen zurückgebliebene Flüssigkeit stellt also eine etwa hundertfache Serumverdünnung dar; wenn wir diese Flüssigkeit bei der Wägung der Blutkörperchen als „Blutkörperchen" mitwägen, so machen wir damit nur einen Fehler zuungunsten unserer Annahme. Aber selbst angenommen, daß unverdünntes Serum zwischen den Blutkörperchen zurückbleibt und die Menge desselben $^{1}/_{10}$ des Blutkörperchengewichts beträgt, was übertrieben hoch gerechnet ist, so zeigt die einfache Rechnung, daß dies den von uns gefundenen Zuckergehalt der Blutkörperchen in keiner Weise erklärt. Abgesehen davon, ist die annähernde Gleichheit des Zuckergehaltes im Plasma und im Gesamtblut nur durch den Zuckergehalt der Blutkörperchen erklärbar; bei den früheren Methoden, bei denen die Blutkörperchen nicht ausgelaugt wurden, tritt ja der Unterschied im Zuckergehalt von Plasma und Blut deutlich zutage.

Ferner müssen wir uns vergewissern, daß die durch Polarimetrie erhaltenen Drehungen wirklich ganz auf Traubenzucker zu beziehen sind und nicht durch die Gegenwart anderer, rechts- oder linksdrehender Substanzen beeinflußt werden. Es ist bekannt[1]), daß im Blute auch linksdrehende Substanzen vorkommen, und wir können das z. B. für das Kaninchenserum durchaus bestätigen. In unseren Hundeblutproben waren dagegen die durch linksdrehende Substanzen hervorgerufenen Drehungen so gering, das wir sie für unsere Zwecke vollkommen vernachlässigen können. Die geringen Spuren von Linksdrehung, die wir manchmal nach der Vergärung der betreffenden Lösungen erhalten haben, überschritten nur gerade das Bereich der Fehlergrenzen. In den meisten Fällen war die Drehung der vergorenen Flüssigkeiten eindeutig gleich 0.

Um diese festzustellen, wurden die eingeengten Flüssigkeiten nach der Polarisation mit Wasser verdünnt, auf eine gegen Phenolphthalein neutrale Reaktion (bis zur eben voll-

---

[1]) Vgl. Paul Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 518. Lépine und Boulud, Compt. rend. 133, 138; 134, 398; 135, 139; 138, 610; 143, 500, 539. Vgl. auch die Arbeit von J. G. Otto l. c.

kommenen Entfärbung) gebracht und mit Hefe versetzt. Am nächsten Tage wurde das Filtrat auf das vorherige Volumen wieder eingeengt, durch etwas Kaolin geklärt und wieder polarisiert. War als Elektrolyt $ZnSO_4$ verwendet worden, so wurde dieses vor der Gärung durch Soda als Carbonat niedergeschlagen, wobei der Zusatz der Soda nur bis zu eben deutlich alkalischer Reaktion getrieben und das Filtrat sofort wieder neutralisiert wurde. Einen Einblick in die Größenverhältnisse der ursprünglichen Drehung zu derjenigen nach der Vergärung geben folgende Beispiele: Der Drehungswinkel der eingeengten Flüssigkeit war vor der Gärung im Blute +0,535°, nach der Gärung —0,034°, im Plasma vor der Gärung 1,028°, nach derselben —0,011° (Hund I). — Drehungswinkel im Blute vor der Gärung 0,713°, nach d. G. —0,031°; im Plasma vor d. G. 1,223°, nach d. G. —0,017; in den Blutkörperchen vor d. G. 0,270°, nach d. G. 0° (Hund II). — Drehungswinkel im Blute vor d. G. 0,555°, nach d. G. —0,01°; im Plasma vor d. G. 1,012°, nach d. G. —0,03°; in den Blutkörperchen vor d. G. 0,297°, nach d. G. 0° (Hund III). Bei den Hunden IV bis VII war die Drehung nach der Vergärung überall gleich 0°. Daraus geht hervor, daß wir die abgelesenen Drehungen praktisch ganz auf Traubenzucker beziehen dürfen.[1])

Die Versuche müssen sich außerdem gegenseitig kontrollieren. Wenn wir den gefundenen Zuckergehalt des Serums und den gefundenen Zuckergehalt der Blutkörperchen berücksichtigen und das Verhältnis von Blutkörperchensubstanz und Flüssigkeit im Blute kennen, so muß sich daraus ein Wert für den Zuckergehalt des Gesamtblutes berechnen lassen, der mit dem direkt gefundenen übereinstimmt. Unter der Annahme, daß das Verhältnis von Blutkörperchenmasse zur Masse der Blutflüssigkeit 44 : 56 ist[2]), und daß das spezifische Gewicht der Blutkörperchen 1,1 ist, kommen wir zu folgenden Zahlen:

---

[1]) Wir können nicht mit Sicherheit behaupten, daß im Hundeblut überhaupt kein linksdrehender Körper vorhanden ist; es wäre denkbar, daß dieser durch das Eisenhydroxyd adsorbiert wird, zumal dieser fragliche Körper voraussichtlich eine Säure sein dürfte. Gegen diese Annahme spricht allerdings, daß im Kaninchenserum trotz Anwendung der „Eisenmethode" der linksdrehende Körper dem Nachweis nicht entging.

[2]) Vgl. E. Abderhalden l. c.

Tabelle II.

	56 ccm Plasma enthalten g Zucker	44 ccm Blutkörperchen enthalten g Zucker	100 ccm Blut enthalten g Zucker berechnet	100 ccm Blut enthalten g Zucker beobachtet
Hund I	0,102	0,037	0,139	0,171
Hund II . . .	0,112	0,063	0,175	0,178
Hund III . . .	0,095	0,048	0,143	0,154
Hund IV . . .	0,100	0,081	0,181	0,177
Hund V . . .	0,157	0,040	0,197	0,219
Hund VI . . .	0,099	0.057	0.156	0,195
Hund VII . . .	0,064	0,023	0,087	0,098
Hund VIII . .	0,067	0,028	0,095	0,107

Diese Zahlen zeigen, daß in den Fällen II, III, IV, VII und VIII die Übereinstimmung der gefundenen und berechneten Werte praktisch vollkommen ist. Aber auch im Fall I, V und VI ist die Übereinstimmung, wenn auch nicht so gut, doch nicht unbefriedigend. Die Differenzen sind sämtlich in dem Sinne, daß wir in den Blutkörperchen etwas zu wenig Zucker finden. Möglicherweise ist das darauf zurückzuführen, daß die gerade bei den Blutkörperchen notwendigen langwierigen Manipulationen zu Zuckerverlusten führen.

Überblicken wir nun die gewonnenen Resultate, so finden wir, daß die Blutkörperchen Traubenzucker in erheblichen Mengen enthalten. Der Gehalt des Serums und der Blutkörperchen an Zucker ist manchmal fast gleich, in anderen Fällen sehr deutlich verschieden. Bei der allgemein angenommenen Impermeabilität der Blutkörperchen für Zucker kann es nicht wundernehmen, daß die Zuckerkonzentrationen innerhalb und außerhalb der Blutkörperchen nicht immer gleich sind,[1]) ist es doch mit dem Gehalt an Na- und K-Ionen innerhalb und außerhalb der Blutkörperchen ebenso. Die Frage, wie denn überhaupt Zucker in die Blutkörperchen hineinkommt, ist mit Gewißheit bisher ebensowenig zu beantworten, wie die Frage,

[1]) Der Begriff der „Konzentration" des Zuckers in den Blutkörperchen ist allerdings bisher nicht scharf zu definieren. Es ist möglich, daß das feste Gerüst der Blutkörperchen als Lösungsmittel für den Zucker nicht in Betracht kommt; dann wäre nur der wäßrige Anteil der Blutkörperchen als Lösungsmittel für den Zucker zu rechnen. und die „Konzentration" der Zuckerlösung in den Blutkörperchen würde höher ausfallen als nach unserer Rechnung.

auf welchem Wege die Salze hineinkommen, die ja die Wand des Blutkörperchens auf dem Wege der Diffusion auch nicht passieren können. Wenigstens glauben wir an der Impermeabilität für die Blutkörperchen festhalten zu müssen und kein Recht zu haben, die höchst beachtenswerten von Jacques Loeb[1]) gefundenen Tatsachen, die die Permeabilität mancher anderer Zellarten für Salze wahrscheinlich machen, auf unser Material übertragen zu dürfen.

Sobald aber prinzipiell erwiesen ist, daß der Zuckergehalt inner- und außerhalb der Blutkörperchen nicht gleich zu sein braucht, liegt es jetzt nahe, die Schwankungen des Blutkörperchenzuckers unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen zu studieren. Zufälligerweise gibt uns einer unserer Versuche einen Fingerzeig in dieser Richtung: in Versuch V findet sich ein ungewöhnlich hoher Zuckerwert im Plasma, der vielleicht auf die Wirkung der Narkose zu beziehen ist.[2]) In demselben Falle ist aber der Zuckergehalt der Blutkörperchen nicht nur nicht vermehrt, sondern ist besonders niedrig, so daß der Zuckergehalt des Gesamtblutes kaum erhöht ist. Ob etwas Ähnliches die Regel ist oder nicht, müssen natürlich erst weitere Versuche lehren, aber die Unabhängigkeit des Zuckergehaltes im Plasma und in den Blutkörperchen offenbart sich in diesem Falle besonders deutlich.

Diese am Hundeblut gewonnenen Ergebnisse können wir jedoch wenigstens nach unseren bisherigen Erfahrungen nicht ohne weiteres auf andere Tierarten übertragen. So fanden wir bei Kaninchen in zwei Fällen in den Blutkörperchen keine rechtsdrehende Substanz, hingegen, wie bereits erwähnt, im Serum nach der Vergärung eine starke Linksdrehung; in einem Falle bei (allerdings nicht ganz frischen) Rinderblutkörperchen keine Rechts-, sondern ausgesprochene Linksdrehung.

---

[1]) Jacques Loeb, Über den Unterschied zwischen isosmotischen und isotonischen Lösungen usw. Diese Zeitschr. 11, 144, 1908.

[2]) Vgl. hierzu auch J. G. Otto l. c.

Verhalten der Phtalsäure im tierischen Organismus.

Von

Julius Pohl.

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität Prag.)

(Eingegangen am 12. Januar 1909.)

M. C. Porcher (Lyon) hat in einer jüngst erschienenen Arbeit[1]) das schon oft behandelte Thema des Phtalsäureschicksals wieder aufgenommen. Er kommt zum Schluß, daß Meta- und Paraphtalsäure zu 75% im Harn wieder erscheinen, Orthophtalsäure hingegen fast vollständig im Hundeorganismus verbrannt werde. Diese letztere Angabe steht in vollem Widerspruch mit einem Befund, den E. Pribram[2]) in meinem Laboratorium erhoben hat. Porcher setzt sich über diese Erfahrungen mit einer Fußnote hinweg, der er die Bemerkung anfügt: „Die Erfahrungen dieses Forschers sind keineswegs überzeugend."

Bei dieser Sachlage hielt ich mich für verpflichtet, die Angabe Pribrams resp. Porchers einer neuerlichen Kontrolle zu unterziehen.

Porchers Verfahren besteht in Salzsäurefällung der im Vakuum abgedampften alkoholischen Harnextrakte; einen analytischen Beleg über die Zulässigkeit, die Fehlergrenzen des Verfahrens enthält seine Arbeit nicht. Pribram hingegen findet von 0,1 g dem Harn zugesetzter Phtalsäure 0,0992 wieder. Ich habe daher Pribrams Verfahren bei der Nachprüfung beibehalten und führe dasselbe hier vorerst noch einmal an:

---

[1]) Verhalten der drei Phtalsäuren im Organismus des Hundes. Diese Zeitschr. **14**, 351, 1908.

[2]) Zur Lehre v. d. physiolog. Wirkungen carbocyclischer Säuren. III. Schicksal der Phtalsäure im tierischen Organismus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 378, 1904.

„Der Harn wird mit dem 5 bis 8fachen Volumen Alkohol verdünnt, filtriert, das gemessene Filtrat mit Bariumacetat (5%) ausgefällt, ca. 1 bis 2 Stunden stehen gelassen, der Niederschlag aufs Filter gebracht, mit Alkohol farblos gewaschen, getrocknet. Der das Bariumphtalat enthaltende Niederschlag wird samt dem Filter in eine entsprechende Stöpselflasche gebracht, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt (5 bis 6 mal, bis der Äther rückstandlos abdunstet). Nach dem Abdestillieren des Äthers bleibt die Phtalsäure krystallinisch zurück. Da sie aber immer noch mit Harnfarbstoffen imprägniert ist, muß noch nachfolgender Reinigungsprozeß des obigen Rückstandes erfolgen.

Der Rückstand wird mit Natriumhydroxyd und wenig Wasser gelöst, quantitativ in einen Meßcylinder gebracht und mit einer geringen Menge Kupfersulfat, 2 bis 5 ccm, versetzt (die Reaktion aber muß dauernd alkalisch bleiben!); der Niederschlag schlägt die meisten Farbstoffe mit nieder. Das gemessene Filtrat wird angesäuert, mit Äther bis zur Erschöpfung ausgeschüttelt und letzterer aus einem gewogenen Kölbchen abdestilliert. Der Rückstand ist dann fast rein weiß, er wird gewogen.“

Ich habe mittels dieses Verfahrens aus 20 ccm einer 1% Phtalsäurelösung (Phtalsäure gewogen, mit NaOH gelöst) statt 0,20 erhalten: 0,199.

Die folgenden Tierversuche habe ich, um hierin mit Porcher übereinzustimmen, am Hunde durchgeführt, die Substanz aber wurde, in beabsichtigtem Gegensatz zu letzterem, subcutan eingeführt.

Versuch 1.

Hündin, 6500 g, erhält am 15. Dez. 20 ccm obiger Lösung = 0,199 g Phtalsäure subcutan. Harn der nächsten 24^h = 120 ccm = 0,194 Phtalsäure (nach Abzug der aus gleichem Volumen Normalharns berechneten Verunreinigungen).

Versuch 2.

Dasselbe Tier. Subcutan 0,198 g. In den nächsten 24^h 190 ccm Harn mit 0,157 g Phtalsäure (ebenfalls nach Abzug der auf ein gleiches Volumen Normalharns erhaltenen Verunreinigungen).

Insbesondere der 1. Versuch berechtigt zum Ausspruch, daß auch der Hundeorganismus Orthophtalsäure quantitativ unangegriffen ausscheidet.

Der prinzipielle Fehler Porchers liegt (außer in der methodischen Unsicherheit seines Verfahrens) darin, daß er, obwohl schon Pribram von den zersetzenden Bedingungen im Darmlumen spricht, die Substanz oral und nicht subcutan gereicht hat. Wie sehr hierdurch die Möglichkeit einer Abschätzung tatsächlich resorbierter Substanzmengen aufgehoben wird, erhellt aus folgendem

Versuch 3.

0,1958 Phtalsäure werden in 100 ccm Menschenharn gelöst und nach Impfung mit einem Klümpchen Hundefaeces durch 2 Tage bei etwa 30° stehen gelassen. Maximale Fäulnis des Gemenges. Nach obigem Verfahren wiedergewonnen 0,0761 Phtalsäure = 38,8 % (ohne weiteren Abzug). Somit zumindest Verlust von 61,2 %.

Uber die Aktivierung der hämolytischen Wirkung des Meerschweinchenserums durch Aminosäuren.

Von

Takaoki Sasaki, Tokio.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Eingegangen am 1. Januar 1909.)

Seit längerer Zeit mit dem Studium des Einflusses der Aminosäuren auf die Reaktionen der verschiedensten Immunsubstanzen beschäftigt, zog ich auch die Hämolysine des Blutserums in den Kreis meiner Untersuchungen. Eine Beobachtung, die ich bei Gelegenheit dieser Untersuchungen machte und die mir von Interesse scheint, möchte ich im folgenden mitteilen.

Das Meerschweinchenserum, welches an und für sich sehr wenig hämolytisch auf Ziegen- und Pferdeblutkörperchen wirkt, wird durch Alanin sowie Glykokoll stark aktiviert. Die Hämolyse infolge der Aktivierung durch Alanin bleibt beinahe völlig aus, wenn das Meerschweinchenserum vorher im Wasserbade 40 Minuten auf 50° erwärmt worden war, während dasjenige Komplement, welches durch Immunisierung gewonnenen Amboceptor (Ziegenkaninchen) aktiviert, dabei fast ganz erhalten bleibt. Diese Aktivierung durch Alanin findet sich regelmäßig und in höherem Maße nur bei Meerschweinchenserum, und zwar immer bei Verwendung von Ziegenblut und Pferdeblut, auch von Rinderblut und Kaninchenblut, während bei Anwendung von arteigenem Blut, Hundeblut und Menschenblut (wo in den von mir untersuchten Fällen, 0,4 M-S, 1,0 Blutaufschwemmung 5 %ig, Gesamtvol. 2,5 ccm, auch ohne Alanin keine Hämolyse zutage tritt) keine Aktivierung durch Alanin stattfindet.

Bekanntlich zeigt das Blut verschiedener Spezies eine wenig aufgeklärte, verschieden hohe Empfindlichkeit gegenüber der hämolytischen Wirkung der Normalsera der verschiedenen fremden Tierarten. Ich habe systematisch eine Reihe von Kombinationen von Hunde-, Kaninchen-, Meerschweinchen-, Pferde-, Rinder- und Ziegenserum mit den Blutkörperchen der genannten Tiere und des Menschen und die Beeinflussung dieser Hämolyse durch Alanin untersucht. Bei Hunde-, Rinder- und Ziegenserum zeigte sich keine besondere Beeinflussung der hämolytischen Wirkung durch Alanin, während beim Kaninchenserum auffallenderweise im Gegensatz zum Meerschweinchenserum die hämolytische Wirkung durch Alanin gehemmt wird.[1])

Ich habe besonders das Alanin bei den Versuchen in Betracht gezogen, weil dasselbe ein einfaches und fast nie fehlendes, leicht in Wasser lösliches Spaltungsprodukt der Eiweißkörper ist und seine basische und saure Eigenschaft ganz in Gleichgewicht steht, wodurch man beim Versuch nicht durch Hämolyse infolge des Säure- resp. Basencharakters desselben gestört wird. Weiterhin habe ich festgestellt, daß das Glykokoll dieselbe, und zwar in äquimolekulaler Menge auch quantitativ fast gleiche Wirkung hat wie das Alanin. Aus der Überlegung, daß die chemische Konfiguration bei diesem Phänomen eventuell von Einfluß sein kann, habe ich mit d- und l-Alanin und dl-Alanin[2]) denselben Versuch angestellt und keinen deutlichen Unterschied beobachtet. Deswegen habe ich bei weiteren Versuchen immer dl-Alanin benutzt. Im folgenden seien einige aus der Reihe der zahlreichen Versuche mitgeteilt, bei deren Ausführung ich mich der Unterstützung von Herrn Prof. Morgenroth erfreute.

Die Versuche wurden im Medium von 0,85 % Kochsalzlösung ausgeführt. Zwanzig verschiedene frische Meer-

[1]) Vielleicht steht in Beziehung mit dieser Erscheinung die interessante Beobachtung von Cernovodéanu, der fand, daß zwei Sera A und B bei der Hämolyse von Blutkörperchen der Gattung C sich gegenseitig aktivieren können, sich aber bei der Wirkung auf solche der Gattung D gegenseitig neutralisieren. P. Cernovodéanu, Etude de Chémolyse produite par des melanges de serums normaux. Compt. rend. 61, zitiert nach Biochem. Centralbl. 6, 77.

[2]) d-Alanin aus Seide durch Hydrolyse; l-Alanin aus dl-Alanin nach F. Ehrlich; dl-Alanin von Kahlbaum.

schweinchensera gaben ohne Ausnahme dasselbe Resultat. Das Phänomen tritt auch in anderen Medien, so in isotonischer Rohrzuckerlösung zutage, indem das Meerschweinchenserum in der Rohrzuckerlösung an und für sich auf Ziegenblut ziemlich ausgeprägt hämolytisch wirkt und diese Hämolyse durch Alanin stark befördert wird.

Versuch mit Meerschweinchenserum und Ziegenblut.

	M-S	Hämolyse
1.	0,4	wenig
2.	0,3	sehr wenig
3.	0,2	Spur
4.	0,1	Spürchen
5.	0,5 $^1/_{10}$	0
6.	0,25	0
7.	0,1	0
8.	0	0

Überall je 1,0 ccm 5 $^0/_0$ Ziegenblut (zweimal gewaschen), Gesamtvolum 2,5 ccm.

Derselbe Versuch unter Zusatz der Alaninlösung.

	M-S	Hämolyse
1.	0,4 ccm	komplett
2.	0,3	komplett
3.	0,2	sehr stark
4.	0,1	ziemlich stark
5.	0,5 $^1/_{10}$	wenig
6.	0,25	Spur
7.	0,1	0
8.	0	0

Überall je 1,0 ccm 5 $^0/_0$ Ziegenblut und dl-Alanin, 1,0 g in 10 ccm 0,85 $^0/_0$ Kochsalzlösung gelöst.

Beide Versuche 2 Stunden im Brütschrank bei 37 ^{0}, dann im Eisschrank bis zum nächsten Tage.

Auf welcher Eigenschaft des Alanins beruht diese aktivierende Wirkung?

Um zu untersuchen, ob die Erscheinung durch den Säure- oder Basencharakter oder durch physikalische Momente, und zwar die Permeabilität der Blutkörperchen für das Alanin

hervorgerufen wird, habe ich Versuche mit Meerschweinchenserum und Ziegenblut (ohne Alanin) unter Zusatz von Säure, Natronlauge, Harnstoff, der leicht in die Blutzellen eindringt, Eieralbumin, Pepton (Witte) angestellt und keine Spur von Beförderung der Hämolyse konstatiert. Die angeführten Substanzen hemmen vielmehr, wie weitere Versuche zeigten, die Wirkung des Alanins.

Daß alle zugesetzten Substanzen in der Menge und Konzentration an und für sich keine Hämolyse hervorrufen, wurde durch Kontrollen festgestellt. Aus den ganzen Versuchsreihen seien hier nur folgende Angaben zur Orientierung mitgeteilt.

	M-S	Alanin	Zusätze	Hämolyse
1.	0,2 ccm	0	0	Spürchen
2.	0,2	1,0 ccm	0	stark
3.	0,2	1,0	0,2 $\frac{N}{50}$-HCl	wenig
4.	0,2	1,0	0,2 $\frac{N}{100}$-Malonsäure	wenig
5.	0,2	1,0	0,2 $\frac{N}{20}$-NaOH	Spur
6.	0,2	1,0	0,2 Harnstoff (1,0 g auf 10 ccm)	sehr wenig
7.	0,2	1,0	0,2 Pepton (Witte) (1 g auf 50 ccm)	mäßig
8.	0,2	1,0	0,2 Eieralbumin (Merck) (1,0 g auf 50 ccm)	ziemlich stark

Zuletzt 5% Ziegenblut in 0,85% Kochsalzlösung überall je 1,0 ccm. Die Versuche 2 Stunden im Brutofen, dann im Eisschrank bis zum nächsten Tage gelassen und beobachtet.

Daß das Alanin in gewisser Konzentration ziemlich leicht in rote Blutzellen eindringt, zeigen die folgenden Tatsachen: Das Blutkörperchen erleidet keine Hämolyse sogar in 10% Alaninlösung (in 0,85% Kochsalzlösung gelöst), wie Gryns[1]) auch bei Harnstoff gefunden hat und auf gleichmäßige Verteilung des Harnstoffes auf Blutkörperchen und Umgebung, wodurch der hinzugefügte Harnstoff außerstande ist, eine os-

[1]) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre 1, 208.

motische Druckdifferenz zu verursachen, zurückführte. Dies geschieht selbstverständlich nur infolge der Permeabilität. Wie es sich auch sonst bei an und für sich ungiftigen Substanzen beobachten läßt, tritt auch mit Alanin sofort Hämolyse ein, wenn man die Blutzelle einige Zeit in einer konzentrierten Lösung der Substanz in physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmt, dann nach Zentrifugieren und Abgießen der Flüssigkeit wieder physiologische Kochsalzlösung zusetzt. Dies beweist das Eindringen des Alanins in die Blutzelle.

Daß die Zelle durch das Eindringen des Alanins an und für sich keine Schädigung erfährt, die etwa dieselbe Wirkung wie die Verankerung des Amboceptors hätte, und daß sie gleichzeitig Alanin nicht fest zurückhält, besagt der folgende Versuch: 9 ccm 5 % Ziegenblut (einmal gewaschen) und 6,0 ccm dl-Alaninlösung (1,0 g auf 10 ccm) gemischt, in 2 Röhren geteilt, 2 Stunden in Brütschrank, dann zentrifugiert, die obere Flüssigkeit allmählich ganz vorsichtig mit Kochsalzlösung verdünnt, um die Auflösung infolge der plötzlichen, osmotischen Veränderungen zu vermeiden. Endlich ganz abgegossen, mit 0,85 % Kochsalzlösung gefüllt, so in sedimentiertem Zustande bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt und dann umgerührt, von neuem zentrifugiert, abgegossen, auf 9 ccm gefüllt.

Versuch mit dem mit Alanin vorbehandelten Ziegenblut. Überall je 1,0 ccm von mit Alanin behandeltem Ziegenblut.

	M-S	Hämolyse
1.	0,4 ccm	wenig
2.	0,3	sehr wenig
3.	0,2	sehr wenig — Spur
4.	0,1	Spur
5.	0,5 $^1/_{10}$	Spürchen
6.	0	0

Kontrolle mit demselben Meerschweinchenserum und demselben unbehandelten Ziegenblut.

	M-S	Hämolyse
1.	0,4 ccm	wenig
2.	0,3	sehr wenig
3.	0,2	Spur
4.	0,1	Spürchen
5.	0,5 $^1/_{10}$	0
6.	0	0

Dieselbe Kontrolle unter Zusatz der Alaninlösung.

	M-S	Hämolyse
1.	0,4 ccm	komplett
2.	0,3	komplett
3.	0,2	fast komplett
4.	0,1	stark
5.	0,5 $^{1}/_{10}$	sehr wenig — Spur
6.	0	0

Überall je 1,0 ccm dl-Alaninlösung (1,0 g auf 10 ccm) und 5% Ziegenblut (2 mal gew.).

Ist die Substanz, die bei dem Phänomen die Hauptrolle spielt, ein Komplement? Die Definition des Komplements exakt anzugeben, ist wohl heute noch kaum möglich, wenn auch in letzter Zeit auf die Ähnlichkeit seiner Wirkung mit Seifenhämolyse[1]) vielfach hingewiesen worden ist. Das Verhalten thermischen Einflüssen gegenüber bietet sicher einen gewissen Anhaltspunkt, kann aber nicht als ausschlaggebendes Kriterium angesehen werden, solange das Wesen der „Thermolabilität" der Komplemente noch unaufgeklärt ist. Ähnliche Bedenken hat auch schon Noguchi betreffs der Inaktivierung der Komplemente ausgesprochen. Der Beobachtung von v. Liebermann[2]), welche darin besteht, daß die durch Serumalbumin gehemmte Seifenhämolyse infolge eines geringen Zusatzes von Ölsäure wieder zutage tritt und daß die aktive Ölsäuremischung bei 56 bis 60° C inaktiviert wird, stehe ich zwar in bezug auf ihre Beziehung zur spezifischen Hämolyse mit Reserve gegenüber, halte sie aber immerhin für ein Beispiel von Thermolabilität, das zur Vorsicht in der Beurteilung dieser Vorgänge mahnt, ebenso auch das Verhalten eines Gemenges von taurocholsaurem oder glykocholsaurem Natrium und Serumalbumin[3]) beim Erhitzen auf 60° C. H. Sachs[4]) hat gleichfalls neulich

[1]) L. v. Liebermann, Über Hämagglutination und Hämatolyse, Arch. f. Hygiene 52. — H. Noguchi, Über gewisse chemische Komplementsubstanzen. Diese Zeitschr. 6.

[2]) L. v. Liebermann, Über Hämagglutination und Hämatolyse. Arch. f. Hygiene 52.

[3]) B. v. Fenyvessy, Über die hämolytische Wirkung der Gallensäure und ihrer Salze. Diese Zeitschr. 5.

[4]) H. Sachs, Bemerkung über die Inaktivierung von Lipoiden in eiweißhaltigen Lösungen. Wiener klin. Wochenschr. 1908, 322.

gegenüber der Beobachtung von H. Raubischek und V. Ruß[1]) „über die Aufhebung der Thermoresistenz der Pyocyanase in eiweißhaltiger Lösung" auf seine Beobachtung hingewiesen, daß das Lecithin, wenn es mit Hämoglobinlösung gemischt ist, durch ein halbstündiges Erhitzen auf 62° C seine kobragiftaktivierende Wirkung verliert.

Das Verhalten des Meerschweinchenserums gegenüber der Alanin-Aktivierung nach vorheriger Einwirkung höherer Temperaturen zeigen folgende Versuchsbeispiele.

8 Reagensgläser mit je 1,0 ccm Meerschweinchenserum werden im Wasserbade auf 50° C erhitzt, jede 5 Minuten herausgenommen in Eiswasser gesteckt:

	M-S (40 Min. erhitzt)	dl-Alanin	Hämolyse
1.	0,2 ccm	1,0 ccm	Spur
	M-S (unerhitzt)		
2.	0,2 ccm	1,0	komplett
3.	0,2		0

Alle Versuche je 1,0 ccm 5 % Ziegenblut (2 mal gew.).

Komplementbestimmung vor und nach dem Erhitzen als Kontrolle.

	M-S (unerhitzt)	Hämolyse
1.	0,1 ccm	komplett
2.	0,5	komplett
3.	0,25	komplett
4.	0,1	fast komplett
5.	0	0

	M-S (40 Min. erhitzt)	Hämolyse
1.	0,1 ccm	komplett
2.	0,5	fast komplett
3.	0,25	mäßig
4.	0,1	Spur

Beide Versuche überall je 1,0 ccm 5 % Ziegenblut (2 mal gew.) und 0,5 ccm $^1/_{10}$ Amboc. (Ziegenblut-Kaninchenserum, 0,25 ccm $^1/_{100}$ komplett lösend).

Die Hämolyse infolge der Aktivierung durch Alanin bleibt schon nach 40 Minuten langem Erwärmen auf 50° (0,2 ccm

[1]) l. c.

Serum) bis auf Spuren aus, während die komplementierende Wirkung desselben erhitzten Serums auf Immunamboceptor fast komplett erhalten bleibt. Diese neue Erscheinung spricht für die Komplementnatur der durch Alanin aktivierten Substanz, die offenbar von dem bei der Aktivierung des Immunamboceptors wirksamen Komplement verschieden ist.

Die Anschauung[1]), daß in jedem Serum eine Reihe verschiedener komplementartiger Substanzen vorhanden sein könnten, wurde schon seit lange behauptet und experimentell bewiesen.[2])

Die Beeinflussung des Komplements, welches den schon oben benutzten Immunambocepter aktiviert, durch Alanin zeigt der folgende Versuch: Amboceptor (Ziegenblut-Kaninchenserum, komplett lösende Dosis $0{,}25\,{}^{1}/_{100}$) überall je 0,1 ccm bis auf Nr. 7. Überall auch zuletzt 5 % Ziegenblut (2 mal gew.). 1,0 ccm.

	M-S	Hämolyse
1.	0,5 ccm	komplett
2.	0,25	komplett
3.	0,1	sehr stark
4.	$0{,}5\,{}^{1}/_{10}$	ziemlich stark
5.	0,25	Spur
6.	0	0
7.	0	0

Derselbe Versuch unter Zusatz der Alaninlösung.

Zuerst überall je 1,0 ccm dl-Alaninlösung (1 g auf 10 ccm).

	M-S	Hämolyse
1.	0,5 ccm	komplett
2.	0,25	komplett
3.	0,1	mäßig — wenig
4.	$0{,}5\,{}^{1}/_{10}$	sehr wenig
5.	0,25	0
6.	0	0

[1]) Ehrlich und Morgenroth, und Ehrlich und H. Sachs, Über die Vielheit der Komplemente des Serums. Gesamm. Arbeiten zur Immunitätsforschung. Berlin 1904.

[2]) Ich möchte nicht unerwähnt lassen, daß der zeitliche Ablauf der Wärmeinaktivierung je nach dem Individuum schwankt, wenn das Phänomen auch bei Meerschweinchenserum nie fehlt. Die Inaktivierung ist in der Zeit von 40 Minuten bei 50° nicht immer vollständig. So wirkte z. B. ein Meerschweinchenserum in der Menge 0,2 ccm auf 1,0 ccm 5 % Ziegenblut ohne Alanin nur in Spuren hämolytisch, unter Alaninzusatz (1 auf 10) komplett lösend, nach 50 Minuten bei 50° trat mit Alanin noch mäßige Hämolyse auf.

Das Komplement des spezifischen Amboceptors wird also durch Alanin vielmehr ein wenig gehemmt.

Die bei der aktivierenden Einwirkung des Alanins in Frage kommende Substanz kann ein noch inaktives Komplement sein, das durch Alanin zur Wirkung gebracht wird. Sicheres läßt sich bis auf weiteres über den Mechanismus dieser Vorgänge und ihr Substrat nicht angeben.

Es sei noch kurz einiges über die Beeinflussung anderer hämolytischer Gifte durch Alanin resp. Glykokoll mitgeteilt.

		Hämol. Gifte	Hämolyse
A)	1.	$\frac{N}{100}$-Asparaginsäure 0,25 ccm	komplett
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Alanin- resp. Glykokollösung	0
B)	1.	$\frac{N}{1000}$-Weinsäure 1,0 ccm	komplett
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Glykokollsg.	0
C)	1.	$\frac{N}{100}$-Malonsäure 1,0 ccm	komplett
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Glykokollsg.	0
D)	1.	$\frac{N}{100}$-Salzsäure 0,25 ccm	komplett
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Glykokollsg.	0
E)	1.	$\frac{N}{100}$-NaOH 1,0 cc	komplett
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Glykokollsg.	0
F)	1.	Lecithin[1]) 0,5 ccm	sehr stark
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Alaninlsg.	wenig
G)	1.	Öls. Na (Merk)[2]) 0,5 ccm	fast komplett
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Alaninlsg.	mäßig
H)	1.	Saponin (Kahlbaum, 1:5000) 0,25 ccm	Spur
	2.	unter Zusatz von 1,0 ccm Alaninlsg.	komplett

dl-Alaninlösung: 1,0 g auf 10 ccm in 0,85 % Kochsalzlösung.

Glykokollösung: 0,84 g auf 10 ccm in derselben Menge Kochsalzlösung gelöst.

---

[1]) Lecithin (Kahlbaum) 0,5 g in 10 ccm Methylalkohol, davon 1,0 ccm + 9 ccm 0,85 % Kochsalzlösung.

[2]) $\frac{1}{100}$ von 1 % Stammlösung.

Die Eigenschaft der neutralen Aminosäure, die Säuren und die Basen gegenüber der Blutzelle ungiftig zu machen, ist wahrscheinlich aus ihrem amphoteren Charakter zu erklären. Immerhin scheint es mir eine interessante Tatsache für gewisse biologische Probleme zu sein, daß sie auch so die giftige Wirkung der anderen, an basischen resp. sauren Eigenschaften überwiegenden Aminosäuren aufhebt. Wir sehen also hier eine deutliche Hemmung der Säure- resp. Basenhämolyse und eine mäßige der Lecithin- und Seifenhämolyse durch Alanin resp. Glykokoll, auffallenderweise aber bedeutende Beförderung der Saponinhämolyse. Diese letzte wird aber nach Arrhenius[1]) durch Lecithin und durch fettlösende Körper, wie Alkohol und Äther erniedrigt, während die Hämolyse durch Säuren durch Lecithin stark befördert wird und die durch Basen unbeeinflußt bleibt. Die hemmende Wirkung der Serumeiweißkörper gegen Gallen- und Seifenhämolyse ist schon bekannt. Bemerkenswert ist noch die relativ geringe Hemmung der Seifenhämolyse durch Alanin, während dasselbe bei Alkalihämolyse so stark zu hemmen imstande ist. Die Hämolyse durch Seife wird also wahrscheinlich nicht nur durch Alkaliwirkung verursacht, sondern auch durch andere Faktoren, wie schon R. Koch bei der desinfizierenden Wirkung der Seife[2]) annahm; wahrscheinlich spielt bei der Hämolyse auch ihr Lösungsvermögen gegenüber den Lipoiden eine große Rolle.

---

[1]) S. Arrhenius, Versuche über Hämolyse. Diese Zeitschr. 11.

[2]) H. Reichenbach, Die desinfizierenden Bestandteile der Seifen. Zeitschr. f. Hygiene 59.

Elektrische Überführung von Fermenten.

I. Das Invertin.

Von

Leonor Michaelis.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses am Urban zu Berlin.)

(Eingegangen am 9. Januar 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Überführungsversuche mit Fermenten, Toxinen und eiweißartigen Stoffen haben den Zweck, den elektrochemischen Charakter dieser Substanzen festzustellen. Die zweite Methode, welche dasselbe Ziel hat, ist die Adsorptionsanalyse, unter der Voraussetzung, daß die Adsorption nachweislich nur auf elektrischem Wege und nicht mechanisch erfolgt.

Die Adsorptionsmethode, von der ich in früheren Arbeiten wiederholt Gebrauch machte, ist erheblich einfacher als die elektrische Überführung und hat daneben noch den Vorteil, daß der Versuch fast gar keine Zeit erfordert, so daß bei sehr empfindlichen Substanzen Verluste durch spontane Zersetzungen nicht zu fürchten sind. Wir werden uns also auf die Adsorptionsanalyse verlassen können, wenn wir die geeignete Auswahl unter den adsorbierenden Substanzen treffen: nämlich nur diejenigen benutzen, die nur ein elektrisches und kein mechanisches Adsorptionsvermögen besitzen.[1]) Wir müssen uns nur an geeigneten Beispielen überzeugen, daß beide Methoden identische Resultate geben. In diesem Sinne unternahm ich es, die Überführung des Invertins zu untersuchen, weil dieses Ferment so besonders charakteristische Resultate bei der Ad-

[1]) S. besonders Michaelis und Rona, diese Zeitschr., 15, 196, 1908.

sorptionsanalyse ergeben hatte, indem es sich im Gegensatz zu den meisten anderen Fermenten nicht als amphoter, sondern als ausgesprochen sauer erwies.

Die elektrischen Überführungsversuche bieten nun gewisse Schwierigkeiten. In verschiedener Weise wurde die Überführung von Toxinen von Biltz, Much und Siebert[1]) sodann von Bechhold,[2]) weiterhin von Field und Teague[3]) und zuletzt von Landsteiner und Pauli[4]) versucht. Die Schwierigkeit liegt in der Vermeidung der sekundären Einflüsse der elektrolytischen Produkte auf das Ferment, welche Konzentrationsverschiebungen hervortäuschen können, wo es sich um bloße Zerstörung der Substanz handelt. Die wichtigsten sekundären Produkte der Elektrolyse sind die Säuren, die sich an der Anode, und die Basen, die sich an der Kathode bilden. Säureempfindliche Stoffe werden daher an der Anode, alkaliempfindliche an der Kathode leicht zerstört. Deshalb wurde wiederholt versucht, von der einfachen Anordnung, wie man sie bei Überführungsversuchen mit Ionenlösungen anwendet, abzugehen. Diese einfache Anordnung besteht schematisch nämlich darin, daß der ganze Überführungsraum in zwei Hälften geteilt wird, die anodische und die kathodische, und die durch den Stromdurchgang hervorgerufene Konzentrationsverschiebung auf den beiden Seiten gemessen wird. Pauli[5]) bediente sich dreier Räume:

I II III

Pt | Eiweißlösung | Eiweißlösung | Eiweißlösung | Pt

Alle 3 Räume wurden zunächst mit der gleichen Eiweißlösung gefüllt und nach Durchgang des Stroms die Konzentration von I und von III mit der als Kontrolle dienenden Lösung II verglichen.

Eine nützliche Abänderung stellt die Anordnung

I II III IV

Pt | Wasser | Ferment | Ferment | Wasser | Pt

---

[1]) Behrings Beiträge 1905.
[2]) Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 39.
[3]) Journ. of experim. Med. 9, 86, 1907.
[4]) 25. Kongreß f. inn. Med., Wien 1908, 57.
[5]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 531, 1906.

dar, welche in dem „Glockenapparat" von Bechhold verwirklicht ist. Der Raum I dient nur zur Aufnahme der Elektroden, ebenso der Raum IV. Zwischen I und II sowie zwischen III und IV befindet sich eine Pergamentmembran. Raum II und III werden mit der gleichen Fermentlösung gefüllt, und nach Beendigung des Versuches die Konzentrationsverschiebungen in den Räumen II und III gemessen. Die Elektroden sind so von den zu analysierenden Flüssigkeiten räumlich getrennt, und das Auftreten der sauren und alkalischen Reaktion wird so wenigstens verlangsamt.

Eine andere Anordnung, welche sich in den Apparaten von Field und Teague, sowie von Landsteiner und Pauli findet, besteht darin, daß das Ferment in einem Mittelgefäß sich befindet und von hier je nach dem Wanderungssinn in ein vorher fermentfreies seitliches Gefäß wandert:

I II III IV V

Pt | Wasser | Wasser | Ferment | Wasser | Wasser | Pt

I und V enthält Wasser und die Elektroden, II und IV enthält vor Durchgang des Stromes nur Wasser oder eine indifferente Elektrolytlösung, III wird mit der Fermentlösung beschickt. Nach Durchgang des Stromes ist das Ferment entweder nach II oder nach IV herübergewandert. Der Vorteil dieser Versuchsanordnung besteht darin, daß zur Feststellung der Wanderung nicht eine geringfügige Konzentrationsdifferenz gemessen zu werden braucht, welche bei Fermenten oft schwer festzustellen ist; es hängt ja die Reaktionsgeschwindigkeit der Fermente, aus der wir allein auf ihre Konzentration schließen können, auch von anderen Einflüssen, als von ihrer Konzentration, besonders von Reaktionsänderungen ab, welche in vollkommener Weise auf dem bisherigen Wege doch nicht ausgeschaltet werden konnten.

Diese Anordnung ist besser als die früheren. Aber trotzdem war es mir nicht möglich, das Auftreten der alkalischen oder der sauren Reaktion selbst in den von den Elektroden entfernten Räumen II und IV ganz zu unterdrücken, wenn der Strom längere Zeit durchgeleitet wurde. Der Kunstgriff, dessen sich Field und Teague bedienen, daß sie das Gefäß II und IV mit Agar füllen und es ihnen so ermöglicht

wird, die Flüssigkeit in I und V in Intervallen zu erneuern, ist für Fermente, die man aus dem Agar schwer wieder in Freiheit setzen kann, nicht gut anwendbar, dürfte auch wegen der elektrischen Endosmose in den capillaren Hohlräumen des Agars ihre Bedenken haben.

Der Übelstand aller dieser Anordnungen liegt in der Wahl der Elektroden. Es wird ganz allgemein Platin dazu benutzt. Nimmt man statt dessen unpolarsierbare Elektroden, so ist die ganze Schwierigkeit des Auftretens schädlicher Reaktionsänderungen beseitigt. Eine unpolarisierbare Elektrode ist bekanntlich ein Metall, welches in die Lösung eines seiner Salze taucht. Wenn man also z. B. als Elektroden Zink und als Lösung für den Raum I und V Zinksulfat benutzt, so kann eine Änderung der Reaktion nicht eintreten. Es muß nur soviel Zn SO_4 zugegeben werden, daß auf der Kathodenseite auch nach Beendigung des Versuches noch etwas Zn in Lösung bleibt.

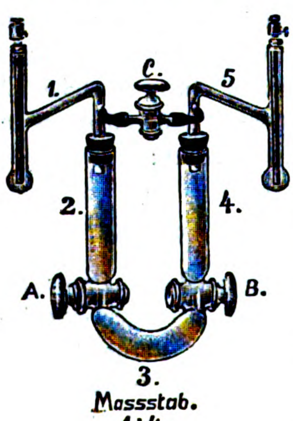


Fig. 1.

Die Anordnung des Apparates schließt sich an die von Landsteiner und Pauli gegebene an, mit Änderung der Elektrode.

Ein U-förmiges Gefäß II, III, IV ist durch durchbohrte Glashähne A und B in drei Abteilungen geteilt. Nach oben werden die seitlichen Gefäße durch einen Gummistopfen in zwei gebogene Glasrohre fortgesetzt, die untereinander durch seitliche Stutzen mit Hahn C verbunden werden können. In den seitlichen Enden befinden sich Zinkstäbe als Elektroden. Der Apparat[1]) wird folgendermaßen gefüllt. Zunächst wird der Raum III mit der Invertinlösung gefüllt und dann die Hähne A und B geschlossen. Dann werden die Räume II und IV ausgewaschen und mit destilliertem Wasser gefüllt, ebenso die Rohre I und V mitsamt dem Verbindungsschlauch bei offenem

[1]) Der Apparat ist von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin N, zu beziehen.

Hahn C. Dann wird durch die seitlichen Enden der Glasrohre beiderseits ca. 1 g Zinksulfat in Substanz hineingegeben, so daß es in die kugligen Erweiterungen des Rohres herunterfällt, und die Elektroden aus Zink hineingestekt. Nachdem das Niveau sich vermittels des Verbindungsschlauches reguliert hat, wird der Hahn C geschlossen, der Strom von 110 Volt Klemmenspannung eingeschaltet, und zuletzt werden die Hähne A und B vorsichtig geöffnet. Die Stromstärke ist bei dieser Anordnung etwa 0,0005 Ampère. Die Dauer des Versuches kann gut auf 48 Stunden ausgedehnt werden, ohne daß in II und IV saure oder alkalische Reaktion auftritt.[1])

Das Invertin wurde hergestellt, indem 50 g Preßhefe mit Sand zerrieben und mit 200 ccm Chloroformwasser im Schüttelapparat 6 Stunden lang ausgelaugt und zum Schluß mit Kaolin geklärt und filtriert wurden.[2])

Die Versuche fielen nun folgendermaßen aus:

Anordnung:

	I	II	III	IV	V	
Kathode aus Zn	$ZnSO_4$-Lösung	Wasser	Ferment	Wasser	$ZnSO_4$-Lösung	Anode aus Zn

Nach Beendigung des Stromdurchganges wird der Inhalt von II und IV auf Invertin untersucht. 5 ccm der entnommenen Flüssigkeit + 1 ccm einer Rohrzuckerlösung drehen im Rohr von 18,9 mm bei ca. 18° Temperatur:

Versuch 1 (Dauer des Stromdurchganges 24 Std.).

Anodische Flüssigkeit Zeit	Anodische Flüssigkeit Drehung	Kathodische Flüssigkeit Zeit	Kathodische Flüssigkeit Drehung
0	+2,10°	0	2,45°
24 Std.	+0,50°	24 Std.	2,45°

Versuch 2 (Stromdauer 48 Std.).

Zeit	Anodische Drehung	Kathodische Drehung
0	+5,21°	5,61°
21 Min.	+4,60°	5,61°
71 „	+3,04°	5,61°
112 „	+1,92°	5,61°
22 Std.	—1,80°	5,61°

[1]) Wenn es, bei anderen Fermenten oder Toxinen, auch darauf ankommen sollte, jede Spur Zn aus IV fernzuhalten, so wählt man an der Anodenseite eine andere Anordnung: Silber in ClNa-Lösung. Die in Lösung gehenden Ag-Ionen werden dann in Form von AgCl sofort entfernt.

[2]) Vgl. Michaelis, diese Zeitschr. 7, 488, 1908.

Versuch 3 (Stromdauer 24 Std.).

0	+6,28°	+6,35°
11 Min.	+6,15°	+6,35°
40 „	+6,05°	+6,35°
97 „	+5,67°	+6,35°
24 Std.	—0,60°	+6,35°

Resultat: In allen Fällen ist die Kathodenseite völlig frei von Ferment, die Anodenseite stark fermenthaltig.

Es wurde nunmehr untersucht, ob durch Erhöhung der H^+-Ionenkonzentration nicht eine Umladung des Invertins zu erreichen ist, wie es nach Hardy[1]) für koaguliertes, nach Pauli[2]) auch für genuines Eiweiß sehr leicht gelingt.

Versuch 4.

Anordnung:

	I	II	III	IV	V	
Kathode aus Zn	$Zn\text{-}SO_4$-Lösung	n/60 Essigsäurelösung	Fermentlösung + 1/40 Vol. Eisessig	n/60 Essigsäurelösung	$Zn\text{-}SO_4$-Lösung	Anode aus Zn

(Stromdauer 24 Std.)

Danach Inhalt von II und von IV mit Rohrzucker versetzt. Drehung im 10 cm-Rohr:

Anodische Flüssigkeit Zeit	Anodische Flüssigkeit Drehung	Kathodische Flüssigkeit Drehung
0	+5,95°	+5,90°
90 Min.	+5,43°	+5,90°
195 „	+4,76°	+5,90°
24 Std,	—0,26°	+5,85°
72 „	—1,95°	+5,80°

Es zeigt sich also, daß das Invertin unabhängig von der Reaktion des Mediums ausgesprochen anodisch wandert.

Es ergibt sich somit einstimmig sowohl durch Adsorptionsanalyse wie durch elektrische Überführung, daß das Invertin eine ausgesprochene Säure ist.

[1]) Journ. of Physiol. 24, 288, 1899.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u, Pathol. 7, 531, 1906.

Zur Kenntnis des Jodthyreoglobulins.

Dem Andenken von Prof. D. Kurajeff gewidmet.

Von

A. Nürenberg.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 7. Januar 1909.)

Das Jodthyreoglobulin, dessen chemische Untersuchung ich auf Veranlassung des Herrn Prof. D. Kurajeff unternahm, hat Oswald[1]) zuerst aus den wässerigen Auszügen der Schilddrüse vom Menschen, Ochsen, Schwein, Hammel und Kalb erhalten und als den größten Teil des Kolloids in der Drüse dieser Tiere erkannt.

1. Darstellung, Eigenschaften und Zusammensetzung des Jodthyreoglobulins.

Die Trennungsmethode beruht auf den Eigenschaften der Ausfällungsgrenze der Eiweißkörper der Schilddrüse bei Ammonsulfatsättigung derer wässerigen Auszüge. Das Jodthyreoglobulin, welches nach Oswald ein Gemisch von jodhaltigem und jodfreiem globulinartigen Eiweißkörpern ist, fällt bei einer Salzkonzentration von 2,6 bis 4,4 Zehntelsättigung der Lösung völlig aus; während das jodfreie, phosphorhaltige Nucleoproteid der Drüsenextrakte nur bei 6,4 Zehntelsättigung auszufallen beginnt, um bei 8,2 völlig ausgesalzt zu erscheinen.

Dem Verfahren von Oswald[2]) im allgemeinen folgend, haben wir drei Haupt- und zwei Nebenpräparate dargestellt.

[1]) Über die chemische Beschaffenheit und die Funktion der Schilddrüse. Straßburg 1900.

[2]) l. c.

Die Schilddrüsen aus den Leichen frisch getöteter Ochsen wurden vom Schlachthause direkt ins Laboratorium gebracht, von Fett und Bindegewebe möglichst befreit, zum Abwaschen von Blut auf die Hälfte zerschnitten und mit kaltem Wasser, welches man mehrmals, bis es sich nicht mehr färbte, erneuerte, im Eisschranke mehrere Stunden lang gelassen. Darauf wurde das Drüsengewebe mittels Lackmaschine und durch Zerreiben im Mörser mit Glassand zerkleinert, dann mit physiologischer (0,8 %) Kochsalzlösung mehrmals extrahiert.

In den vereinigten Auszügen erzeugte der Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung einen rötlich gefärbten flockigen Niederschlag, der dreimal in Wasser gelöst, klar filtriert, durch Ammonsulfat bei demselben Sättigungsgrade jedesmal wiederum ausgefällt, abfiltriert mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung auf dem Filter, bis die rote Farbe verschwand, nachgewaschen wurde (Niederschlag A). Alle beschriebenen Operationen wurden im Eisschranke unter Zusatz von alkoholischer Thymollösung und mit Hilfe der üblichen Beschleunigungsmaßnahmen ausgeführt.

Durch Versetzen der mittels Dialysieren von Ammonsulfat befreiten Lösung des Niederschlages A mit Alkohol (96 %) wurde das Präparat B als weißer flockiger Niederschlag gewonnen.

Zur Darstellung des Präparats C wurde der Niederschlag A in Wasser gelöst, filtriert, mit verdünnter Essigsäure ausgefällt, in einem großen Volumen von sehr schwach alkalisiertem Wasser (1 Teil NaOH auf 1000 Teile Wasser) gelöst, durch Essigsäure wiederum ausgefällt, auf einem Filter gesammelt, noch zweimal ebenso gelöst und ausgefällt und endlich so lange auf dem Filter mit schwach angesäuertem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser sich auf Bariumchloridzusatz nicht mehr trübte.

Die Darstellung des Präparats D weicht vom Oswaldschen Verfahren nur dadurch ab, daß Aceton (Siedep. 56 bis 57°) anstatt Alkohol (s. o. Präparat B) benutzt wurde.

Das Präparat E erhielten wir zufällig als Niederschlag im Dialysator bei Darstellung des Präparats B.

Als Präparat F haben wir ein aus dem gesonderten dritten Extrakt des Drüsenbreies wie Niederschlag A erhaltenes und in Wasser unlösliches Präparat untersucht. Also war Präparat F weder durch Alkohol noch durch Aceton, noch

durch Essigsäure gefällt und von Ammonsulfat bloß durch Abwaschen mit destilliertem Wasser auf dem Filter möglichst befreit. Die Untersuchung dieses Präparates hatte zum Zweck, die Einwirkung der in den ersten Drüsenextrakten eventuell anhaftenden Bluteiweißkörper auf die elementar-analytischen Daten der Präparate B und C zu studieren.

In allgemeiner Charakteristik zeigten unsere Präparate keinen wesentlichen Unterschied zwischeneinander und stimmten mit dem Oswaldschen[1]) Thyreoglobulin aus den Schilddrüsen von Schweinen völlig überein.

Aus wässeriger Lösung wird der Körper durch Magnesiumsulfat bei Sättigung derselben und durch Ammonsulfat bei Halbsättigung ausgefällt.

Im destillierten Wasser erwies sich Thyreoglobulin fast unlöslich, etwas besser löste es sich beim Zusatz von Neutralsalzen und leicht in stark verdünnten Alkalien. In wässerigen Lösungen erzeugt der Zusatz von Essig- bzw. Salzsäure einen Niederschlag, der im Überschusse derselben löslich ist, während durch verdünnte Schwefel- bzw. Salpetersäure diese Sedimentierung des Körpers nur aus mäßig salzhaltigen Lösungen bewirkt wird, und dabei löst sich das ausgefällte Thyreoglobulin beim Überschusse der Säuren nicht.

Die üblichen Farben, Alkaloid- und Fällungsproben der Eiweißkörper fallen alle positiv aus.

Auch die Ehrlichsche Aldehydreaktion [nach Rohde[2]) resp. Steensma[3]) ausgeführt] ist deutlich positiv.

Die Coagulationstemperatur beim 10%igen Magnesiumsulfatgehalt der Lösung liegt bei 63 bis 65°. Bei 50° wird die Lösung schon etwas trüb.

Die Proben auf freies Jod sowie anorganische Jodverbindungen gaben ein negatives, während dieselben nach Schmelzung der Substanz mit einem jodfreien Gemisch von Soda und Salpeter ein deutlich positives Resultat ergaben.

Eine Reihe von Versuchen, den bei Halbsättigung mit Ammonsulfat erhaltenen Niederschlag durch Essigsäure, Alkohol, Aceton, Neutralsalze usw. zu trennen, blieb erfolglos.

[1]) l. c. 9.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 161.
[3]) Ibidem 47, 25.

I. Präparat B.

Nr.	Substanzmenge g	CO_2 g	C %	H_2O g	H %	N g	N %	$BaSO_4$ g	S %	J g	J %	Asche g	Asche %
1.	0,4552	0,8653	51,84	0,2852	6,96	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	0,2598	0,4950	51,96	0,1559	6,89	—	—	—	—	—	—	—	—
3.	0,1656	—	—	—	—	0,02616	15,82[1])	—	—	—	—	—	—
4.	0,1626	—	—	—	—	0,02538	15,66[1])	—	—	—	—	—	—
5.	1,0218	—	—	—	—	—	—	0,1360	1,820[3])	—	—	—	—
6.	1,0416	—	—	—	—	—	—	0,1378	1,816[3])	—	—	—	—
7.	0,5450	—	—	—	—	—	—	—	—	0,004445	0,815[5])	—	—
8.	0,6610	—	—	—	—	—	—	—	—	0,006350	0,960[5])	—	—
9.	0,2670	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0024	0,898
10.	0,5106	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0050	0,979

II. Präparat C.

Nr.	Substanzmenge g	CO_2 g	C %	H_2O g	H %	N g	N %	$BaSO_4$ g	S %	J g	J %	Asche g	Asche %
1.	0,2840	0,5396	51,81	0,1772	6,93	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	0,4084	0,7793	52,04	0,2588	7,04	—	—	—	—	—	—	—	—
3.	0,2268	—	—	—	—	0,03509	15,47[1])	—	—	—	—	—	—
4.	0,3274	—	—	—	—	0,05132	15,67[1])	—	—	—	—	—	—
5.	0,7044	—	—	—	—	—	—	0,1056	2,05[4])	—	—	—	—
6.	0,9244	—	—	—	—	—	—	0,1310	1,945[3])	—	—	—	—
7.	0,5300	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003683	0,694[5])	—	—
8.	0,4068	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003300	0,811[5])	—	—
9.	0,4190	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0016	0,380
10.	0,3152	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0014	0,444

	III. Präparat D.												
1.	0,2286	0,4376	52,20	0,1420	6,90	—	—	—	—	—	—	—	—
2.	0,3264	0,6214	51,92	0,1968	6,69	—	—	—	—	—	—	—	—
3.	0,2516	—	—	—	—	0,03972	15,788[1])	—	—	—	—	—	—
4.	0,2128	—	—	—	—	0,03308	15,544[1])	—	—	—	—	—	—
5.	1,0642	—	—	—	—	—	—	0,1434	1,851[4])	—	—	—	—
6.	0,8682	—	—	—	—	—	—	0,1216	1,923[4])	—	—	—	—
7.	0,3618	—	—	—	—	—	—	—	—	0,002667	0,737[5])	—	—
8.	0,8012	—	—	—	—	—	—	—	—	0,006985	0,871[5])	—	—
9.	0,4512	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0018	0,398
10.	0,6218	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0024	0,385
	IV. Präparat E.												
1.	0,1704	—	—	—	—	0,0261	15,32[2])	—	—	—	—	—	—
2.	0,2044	—	—	—	—	0,3187	15,59[2])	—	—	—	—	—	—
3.	0,5832	—	—	—	—	—	—	—	—	0,004064	0,697[5])	—	—
4.	0,4764	—	—	—	—	—	—	—	—	0,002794	0,586[5])	—	—
5.	0,4386	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0012	0,273
6.	0,3178	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0012	0,377
	V. Präparat F.												
1.	0,1982	—	—	—	—	0,30186	15,23[2])	—	—	—	—	—	—
2.	0,3154	—	—	—	—	0,47455	15,04[2])	—	—	—	—	—	—
3.	0,6220	—	—	—	—	—	—	—	—	0,00381	0,612[5])	—	—
4.	0,5468	—	—	—	—	—	—	—	—	0,00292	0,534[5])	—	—
5.	0,2636	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0082	3,11
6.	0,2314	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0066	2,85

1) Nach Dumas. — 2) Nach Kjeldahl. — 3) Nach Neumann u. Meinertz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 37. — 4) Nach Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 207 — 5) Nach Fresenius, Anleitg. z. quant. chem. Analyse 1.

Die Präparate B, C, D, E und F wurden gesondert voneinander mehrmals mit kaltem und siedendem Alkohol bearbeitet, im Soxhletschen Extraktionsapparat möglichst entfettet, bei Zimmertemperatur getrocknet, im Mörser fein zerrieben und endlich nach dem Trocknen im Wärmeschranke bei 110° C bis zur Gewichtskonstanz der Elementaranalyse unterworfen. Die Ergebnisse der letzteren sind in den Tabellen (S. 90—91) zusammengestellt:

Elementare Zusammensetzung des Thyreoglobulins auf aschefreie Substanz berechnet:

Thyreoglobulin.

	Thyreoglobulin des Ochsen (Oswald)[1]	B mit Alkohol gefällt	C mit Essigsäure gefällt	D mit Aceton gefällt	E im Dialisor abgeschieden	F aus den dritten Auszügen des Drüsenbreies
C	52,45	52,39	52,13	52,23	—	—
H	6,93	6,99	7,01	6,82	—	—
N	15,92	15,89	15,63	15,72	15,55	15,59
S	1,83	1,84	2,00	1,89	—	—
J	0,86	0,89	0,76	0,81	0,64	0,59
Ph	Nicht vorhanden					

2. Untersuchung der hydrolytischen Spaltungsprodukte des Thyreoglobulins.

Bei der Hydrolyse kleiner Mengen des Thyreoglobulins durch Pepsin, Trypsin, verdünnte und konzentrierte Salzsäure (je 5 bis 7 g), Barytwasser (50 g) hat Oswald[2]) Thyrosin, Leucin und Glutaminsäure von den einfachen Spaltungsprodukten isoliert, ohne aber die gefundenen Körper in üblicher Weise zu identifizieren.

A. Spaltung mit konzentrierter Schwefelsäure.

217 g des luftrockenen Thyreoglobulins (Präparate B und C) wurden in einem Rundkolben mit 1240 ccm Schwefelsäure vom spez. Gew. 1,070 bei 15° R (10,19 %) übergossen, 24 Stunden

[1]) l. c. 27.
[2]) l. c. 43 bis 54.

lang stehen gelassen und darauf mit Rückflußkühler auf dem Paraffinbade 5 Stunden lang gekocht. Der von dunkelbraungefärbter Flüssigkeit abfiltrierte Niederschlag wurde mit 10 % iger Schwefelsäure und schwefelsäurehaltigem Wasser nachgewaschen und als Jodothyrin untersucht.[1])

Das Filtrat, der Rest des Niederschlages nach dreifachem Extrahieren desselben durch Alkohol und das schwefelsäurehaltige Waschwasser wurden vereinigt, stark eingeengt und wie folgt untersucht.

Durch einen Vorversuch wurde die Geschwindigkeit der völligen Zersetzung des Thyreoglobulins durch Kochen mit konzentrierter Schwefelsäure ermittelt.

2,0 der Substanz gaben nach 10stündigem Kochen mit 12 ccm destillierten Wassers und 6,0 g Schwefelsäure (1,84) (Quantitätsverhältnisse nach Kossel-Kutschers Vorschrift)[2]) keine Biuretreaktion mehr.

Diesen Angaben gemäß wurde das nach Abtrennung des Jodothyrins gebliebene schwefelhaltige Gemisch zur Untersuchung der einfachen Spaltungsprodukte verarbeitet.

Das Untersuchungsmaterial wurde in einen Meßkolben von 1500 ccm Gehalt gebracht, bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und der Schwefelsäuregehalt in einem aliquoten Teile (5 ccm) durch Titrieren mit $^n/_{10}$-N Natronlauge und Phenolphthalein ermittelt.

Gefunden im Gemische:

Schwefelsäure	508,03 g,
Destilliertes Wasser. . . .	992 ccm.

Berechnet zur Zersetzung von 217,0 g Thyreoglobulin, entsprechend dem beschriebenen Vorversuche:

Schwefelsäure	651,0 g,
Destilliertes Wasser	1302 ccm.

Dementsprechend wurden 310 ccm Wasser und 143,0 g Schwefelsäure zugefügt und im Rundkolben mit Rückflußkühler auf dem Paraffinbade 10 Stunden lang gekocht.

---

[1]) Nürenberg, Zur Kenntnis des Jodothyrins. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 125.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 165.

Die schwarzbraune Flüssigkeit gab keine Biuretreaktion mehr. Der ausgeschiedene schwarze pulverartige Niederschlag wurde abgesaugt, mit siedendem Wasser mehrmals aufgerührt, wiederum abgesaugt und auf der Nutsche nachgewaschen, bis das ablaufende Wasser sich nicht mehr färbte. Der Niederschlag enthielt Jod weder in anorganisch noch in organisch gebundener Form.

Die vereinigten Filtrate und Waschwasser, deren Volum 3 Liter betrug, wurden von Schwefelsäure durch Calciumchlorid, von Ammoniak durch Kochen mit Magnesiumoxyd, von Magnesium durch Barytwasser befreit und endlich der Baryt durch Schwefelsäure genau entfernt. Bei diesen Operationen wurden jedesmal die Niederschläge abfiltriert und mit heißem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat mit dem Waschwasser vereinigt, stellte eine schwach saure, schwarzbraun gefärbte Flüssigkeit von 6,800 ccm Volum dar (Filtrat B).

B. Isolierung und Bestimmung der Basen.

Aus dem Filtrate B wurden Arginin und Histidin nach dem Verfahren von Kossel und Kutscher[1]) abgetrennt. Zu diesem Zwecke wurde in einem aliquoten Teile desselben das zur Sättigung nötige Quantum des Silbers vorläufig festgestellt und darauf das ganze Filtrat B mit Silbersulfat im Überschusse unter Erwärmen auf dem Wasserbade versetzt, dann auf 40° abgekühlt und mit Ätzbaryt im Mörser teilweise angerührt.

Das dabei Abgeschiedene wurde jedesmal abgenutscht, mit Barytwasser und siedendem destilliertem Wasser nachgewaschen.

Das Filtrat wurde mit dem Waschwasser vereinigt, das nach Zusatz von Silbersulfat keinen Niederschlag mehr gab (Filtrat E), mit Schwefelsäure angesäuert und zur Untersuchung auf Lysin und eventuell vorhandene Aminosäuren benutzt. Die gesamten, die Arginin- und Histidinsilberverbindungen enthaltenden Niederschläge wurden in mit Schwefelsäure schwach angesäuertem Wasser gelöst; das ausgeschiedene Bariumsulfat abgesaugt und das hell gefärbte jodfreie Filtrat zur Isolierung des Arginins und des Histidins verarbeitet (Filtrat D).

---

[1]) l. c.

Das Filtrat D wurde vom Silber durch Schwefelwasserstoff und von Schwefelsäure durch Baryt befreit, das Filtrat eingedampft, mit Salpetersäure angesäuert und mit Silbernitrat unter Berücksichtigung der Endreaktion mit Barytwasser gesättigt.

Die Trennung der Silbersalze der Basen voneinander wurde mittels Ausfällen des Histidinsilbers durch vorsichtigen Zusatz von verdünntem Barytwasser bewirkt. Da die Proben mit Barytwasser und ammoniakalischer Silbernitratlösung keine deutlichen Resultate gaben, wurde das Ende der Abtrennung des Histidins vermittels der Paulischen[1]) Reaktion festgestellt.

Arginin. Das Filtrat vom Histidinsilber wurde im Mörser teilweise mit Bariumhydrat angerührt, das Abgeschiedene abgesaugt, nachgewaschen, in schwefelsäurehaltiges Wasser gebracht. Im Filtrate vom schwefelsauren Baryt wurde das Silber durch Schwefelwasserstoff, das gebliebene Bariumhydrat durch Schwefelsäure, der Überschuß der letzteren durch Barytwasser und endlich das Baryt durch Kohlensäure gefällt. Das Filtrat und das Waschwasser wurden vereinigt, auf 100 ccm unter mehrmaliger Filtration vom Ausgeschiedenen eingeengt, durch 10 °/₀ ige Salpetersäure bis zu schwachsaurer Reaktion angesäuert und mit Silbernitrat unter Berücksichtigung der Endreaktion mit Barytwasser gesättigt. Der abgeschiedene schwarzbraune Niederschlag wurde abgesaugt, nachgewaschen und das Filtrat zum Auskrystallisieren des sauren Argininsilbernitrats eingeengt.

Die erhaltenen charakteristischen Krystalle wurden zweimal aus Wasser umkrystallisiert und über Schwefelsäure getrocknet. Das erhaltene Präparat schmolz bei 179 bis 183° [Gulewitsch[2]) 176 bis 183°], und zeigte folgenden Silbergehalt:

1. 0,1712 g gaben beim Glühen 0,0454 Ag.

Eine andere Portion des Argininsilbernitrats wurde aus der Mutterlauge der beschriebenen Krystalle durch Alkohol ausgefällt, gewaschen und ebenso wie die erste getrocknet.

2. 0,1592 g gaben beim Glühen 0,0422 Ag,
3. 0,3004 g „ „ „ 0,0797 Ag.

---

[1]) Ibidem 42, 508.

[2]) Zeitschr. f. phyisol. Chem. 27, 178.

Gefunden	Berechnet für
1. 26,518 % Ag,	$C_6H_{14}N_4O_2 \cdot NHO_3 \cdot AgNO_3$:
2. 26,507 „ „	
3. 26,531 „ „	26,50 % Ag.

Histidin. Der oben beschriebene, Histidinsilber enthaltende Niederschlag wurde im Mörser mit schwefelhaltigem Wasser angerührt, das schwefelsaure Barium abgesaugt und das Filtrat von Silber durch Schwefelwasserstoff und von letzterem durch Eindampfen befreit und zur Isolierung des Histidins benutzt.

Weder durch Fällung mit frisch bereitetem Quecksilbersulfat in 15 % Schwefelsäurelösung noch durch Fällung mit kaltgesättigter Sublimatlösung gelang es, eine genügende Menge analysenreiner Substanz darzustellen; obwohl die beim Eindampfen der salzsauren, von Quecksilber, Schwefelsäure und Baryt üblicherweise befreiten und durch Erhitzen mit Thierkohle entfärbter Lösung ausgeschiedenen spärlichen Krystalle eine scharf positive Reaktion mit Diazobenzosulfosäure gaben.

Das Lysin wurde als Pikrat identifiziert. Zur Isolierung der Base benutzten wir das obenerwähnte Filtrat E. In üblicher Weise wurde das Filtrat von Silber, Schwefelsäure und Baryt befreit, auf 1 Liter eingedampft und durch 10 %ige Phosphorwolframsäure sorgfältig ausgefällt. Der erhaltene Niederschlag wurde mit krystallinischem Bariumhydrat und Wasser im Mörser gerührt, das Bariumphosphorwolframat abgesaugt und im Filtrate der Baryt durch Kohlensäure abgeschieden. Das Filtrat wurde mit dem Waschwasser vereinigt und stark eingeengt, nach dem Verfahren von Kossel[1]) mit heißer gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung vorsichtig versetzt, solange Fällung entstand. Der gelbe Niederschlag wurde aus heißer wässeriger Lösung auskrystallisiert. Die erhaltene krystallinische Substanz wurde zweimal ebenso umkrystallisiert, bei 110° getrocknet und der Stickstoffbestimmung nach Dumas unterworfen.

1. 0,1258 g gaben 21,2 ccm N bei 23° C und 749 mm Druck
2. 0,0734 „ „ 12,2 „ „ „ 22° „ „ 749 „ „

[1]) l. c.

Gefunden	Berechent für
1. 18,71 % N,	$C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH$:
2. 18,59 „ „	18,66 % N.

C. Isolierung und Bestimmung der Monoaminosäuren.[1])

Tyrosin. Die Mutterlauge des Lysinpikrats wurde mit Schwefelsäure angesäuert, durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther von Pikrinsäure, durch Barytwasser von Schwefelsäure befreit und dem Reste des Filtrats E beigemengt. In der erhaltenen Flüssigkeit wurde Phosphorwolframsäure durch Bariumhydrat, der Überschuß des letzteren durch Schwefelsäure genau entfernt.

Die vereinigten Filtrate und Waschwasser wurden bis zur beginnenden Krystallisation eingeengt. Das bei Zimmertemperatur Ausgeschiedene wurde abgesaugt, mit eiskaltem Wasser mehrmals nachgewaschen, mit Tierkohle in wässeriger Lösung entfärbt, durch Kochen mit Eisessig gereinigt, aus ammoniakalischer Lösung umkrystallisiert, bei 110° zur Gewichtskonstanz getrocknet und der Stickstoffbestimmung unterworfen.

0,1560 g der Substanz gaben 12,3816 mg N

Gefunden	Berechnet für
7,936 % N,	$C_9H_{11}NO_3$:
	7,73 % N.

Die charakteristischen schneeweißen Krystalle schmolzen bei 295° C und gaben eine scharfe Millonsche Reaktion.

Die Ausscheidung der Krystalle wurde mehrmals wiederholt, bis die Mutterlauge fast keine Millonsche Reaktion mehr gab.

Glutaminsäure. Die Mutterlauge des Tyrosins wurde mit dem Waschwasser vereinigt, mit Tierkohle entfärbt und stark unter vermindertem Drucke eingeengt und mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Im Eisschranke erstarrte die Flüssigkeit zu einer fast festen Masse, die auch nach Beimengung von Alkohol nicht filtrierbar erschien oder bei weiterem Zusatz desselben teilweise sich löste, ohne einen Krystallbrei übrig zu lassen. Sie wurde in Wasser gelöst, von Alkohol durch Eindampfen befreit, weniger stark, aber doch bis zur Sirupkonsistenz unter vermindertem Drucke eingeengt, mit gasförmiger Salzsäure

[1]) Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Dumas ausgeführt.

gesättigt; nun schied die Flüssigkeit bereits in der Wärme, mehr noch im Eisschranke einen krystallinischen Niederschlag ab. Die Krystalle wurden auf einem Filter gesammelt, mit eiskaltem Alkohol nachgewaschen, mit Tierkohle entfärbt, eingedampft und nach abermaliger Sättigung mit Salzsäure umkrystallisiert. Mit der im Exsikkator über Schwefelsäure und Ätzkali und danach bei 110° getrockneten Substanz wurde einer Chlorbestimmung ausgeführt.

1,0434 g der Substanz gaben 0,8038 AgCl oder 0,1988 Cl.

Gefunden	Berechnet für
19,05 % Cl,	$C_5H_9O_4N \cdot HCl$: 19,35 % Cl.

Die Schmelzpunktbestimmung ergab 193 bis 194° C.

Bereitung der Ester. Die salzsauren Mutterlaugen wurden mit dem Waschalkohol vereinigt, unter vermindertem Druck möglichst stark eingeengt, mit 600 ccm absolutem Alkohol übergossen und mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Die Esterifizierung wurde noch zweimal wiederholt. Nachdem ein Versuch, das Chlorhydrat des Glykokollesters aus dem erhaltenen Gemische, abzuscheiden erfolglos geblieben war, wurde die Esterifikation noch zweimal wiederholt, das Gemisch bei 35 bis 40° unter vermindertem Druck möglichst stark eingedampft, in einen 500 ccm fassenden Meßkolben gebracht und unter Nachwaschen des Gefäßes mit absolutem Alkohol bis zur Marke aufgefüllt.

Die im aliquoten Teile (5 ccm) der sorgfältig gemischten Lösung zweimal nach Volhard-Arnoldscher Methode ausgeführte Chlorbestimmung ergab einen Chlorgehalt derselben entsprechend 43,068 g NaCl. Die Ester wurden durch Natriumäthylat in Freiheit gesetzt. Zu diesem Zwecke wurden 50,059 g alkoholfreien Natriumäthylats (Natrongehalt 16,932 g, entsprechend 43,068 g Natriumchlorid) dem mit Äther überschichteten Gemisch unter Abkühlung und sorgfältiger Umrührung zugefügt. Die Ausscheidung des gebildeten Natriumchlorids wurde durch Zufügung von Äther beschleunigt. Das Natriumchlorid wurde abgesaugt und mit absolutem Alkohol nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit dem Waschalkohol vereinigt, durch wasserfreies Natriumsulfat unter sorgfältigem Umrühren entwässert und vom Trockenmittel abfiltriert. Äther und Alkohol wurden unter

20 mm Druck und bei 35 bis 38° des Wasserbades möglichst abdestilliert und stellten das unten beschriebene äther-alkoholische Destillat dar. Der schwarzbraune Rückstand sirupöser Konsistenz wurde in einen Destillierkolben gebracht und in folgende Fraktionen zerlegt:

1. Fraktion: bis 60° (Temp. des Wasserbades) bei 15 mm Druck (Wasserpumpe).
2. Fraktion: 60 bis 100° (Temp. des Wasserbades) bei 15 mm Druck (Wasserpumpe).
3. Fraktion: 100 bis 160° (Temp. des Bades aus Woodscher Legierung) bei 0,5 mm Druck (Ölpumpe; Fischer-Harriesscher Apparat).
4. Fraktion: 160 bis 205° (Temp. des Bades aus Woodscher Legierung) bei 0,5 mm Druck (Ölpumpe; Fischer-Harriesscher Apparat).

Das ätherisch-alkoholische Destillat wurde mit konzentrierter Salzsäure angesäuert, zur Trockne im Vakuum eingeengt, durch Tierkohle entfärbt und wieder eingeengt. Der Rückstand wurde wiederholt im absoluten Alkohol gelöst und mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Nach 3stündigem Stehen des Gemisches, dem ein Kryställchen Glykokollesterchlorhydrat eingeimpft wurde, im Eisschranke schieden sich weiße Krystalle aus, die abgesaugt, nachgewaschen und zweimal aus heißem absolutem Alkohol umkrystallisiert wurden.

0,1608 g der lufttrockenen Substanz gaben 16,016 mg N.

Gefunden	Berechnet für
9,96 % N	$C_4H_{10}O_2NCl$
	10,03 % N

Die Substanz schmolz bei 144° C.

Fraktion 1 wurde durch 5stünd. Kochen mit der 10fachen Menge destillierten Wassers verseift, bis zur Trockne eingeengt und mit 5facher Menge siedenden absoluten Alkohols dreimal extrahiert. Der Rückstand wurde in absoluten Alkohol gebracht, mit gasförmiger Salzsäure gesättigt, im Vakuum eingeengt und ebenso noch zweimal bearbeitet. Die spärlichen beim Stehen des Gemisches im Eisschranke nach Einimpfung eines Kryställchens von Glykokollesterchlorhydrat ausgeschiedenen Krystalle reichten nur für eine Schmelzpunktbestimmung. Die letztere ergab 144° C.

Das Filtrat vom Krystallbrei wurde mit gelbem Bleioxyd von Salzsäure, mit Schwefelwasserstoff vom überschüssigen Blei, durch Abdampfen vom Schwefelwasserstoff befreit und durch Tierkohle entfärbt. Nachdem mehrere Versuche, das gereinigte Filtrat zu krystallisieren, fehlschlugen, wurde die stark eingeengte heiße Lösung mit absolutem Alkohol versetzt. Der ausgeschiedene schneeweiße Niederschlag wurde abgesaugt, mit Alkohol nachgewaschen, zweimal aus Wasser umkrystallisiert, bei 110° getrocknet und der Analyse unterworfen.

0,1070 g der Substanz gaben 16,5982 mg N.

Gefunden	Berechnet für
15,51 % N	$C_3H_7NO_2$
	15,73 % N

Der Schmelzpunkt lag bei 293 bis 295°.

Ein Teil der Substanz wurde zur Darstellung des Alaninkupfers verbraucht. Die durch Zusatz von Kupfercarbonat erhaltene, aus Wasser zweimal umkrystallisierte Substanz zeigte folgenden Kupfergehalt:

0,2102 g der trockenen Substanz gaben 0,1105 CuO.

Gefunden	Berechnet für
42 % Cu	$C_3H_5NO_2Cu$
	42,15 % Cu

Die Fraktion 2 wurde ebenso wie die erste verseift und mit Alkohol extrahiert. Der Rückstand der Aminosäuren wurde bis zur Trockne eingedampft, in siedendem destilliertem Wasser gelöst und mit absolutem Alkohol ausgefällt. Das Auflösen und Ausfällen wurde noch zweimal wiederholt. Die aus siedendem Wasser zweimal umkrystallisierte Substanz wurde bei 110° getrocknet und einer Stickstoffbestimmung unterworfen.

0,1678 g der Substanz gaben 17,7434 mg N.

Gefunden	Berechnet für
10,57 % N	$C_6H_{13}O_2N$
	10,68 % N

Die alkoholischen Auszüge beider Fraktionen wurden vereinigt und zur Isolierung des Prolins verarbeitet. Zu diesem Zwecke wurde die alkoholische Lösung mehrmals zur Trockne verdampft und wiederum mit absolutem Alkohol ausgezogen.

Nachdem der Rückstand im Alkohol völlig löslich erschien, wurde das Prolin aus stark eingeengter alkoholischer Lösung mit gesättigter alkoholischer Sublimatlösung dem Kossel-Dakinschen[1]) Verfahren folgend gefällt. Trotz sorgfältiger Reinigung und Entfärbung durch Tierkohle konnten wir keine zur Identifizierung genügende Menge der Substanz darstellen. Ebenso erhielten wir nur spärliche Krystalle beim Versuche, die Kupferverbindungen des racemischen und aktiven Prolins nach Fischers[2]) Vorschrift getrennt zu isolieren.

Die Fraktion 3 wurde mehrmals mit Äther extrahiert. Die vereinigten ätherischen Auszüge wurden mit gleichem Volumen destillierten Wassers wiederholt geschüttelt.

Das Waschwasser wurde dem Reste der Fraktion beigemengt, $1^1/_2$ Stunde lang mit 10facher Menge Barytwasser gekocht, durch Schwefelsäure vom Baryt befreit, eingeengt und in konzentrierter Salzsäure gelöst. Nach mehreren erfolglosen Versuchen, das Glutaminsäurechlorhydrat auszukrystallisieren, wurde die salzsaure Lösung verdampft, in Wasser gelöst und durch Kochen mit Bleioxyd von Salzsäure befreit. Die jetzt beim Eindampfen langsam ausgeschiedenen Krystalle wurden abfiltriert, mit Tierkohle entfärbt und mehrmals aus Wasser umkrystallisiert. Das mittels Kupfercarbonat dargestellte Asparaginkupfer wurde bei 110^0 getrocknet und der Analyse unterworfen.

0,2068 g der Substanz gaben 0,0838 g CuO.

Gefunden	Berechnet für
32,38 % Cu	$C_4H_5NO_4$ Cu
	32,61 % Cu

Fraktion 4 wurde ebenso wie die 3. verarbeitet. Auch hier konnte Glutaminsäurechlorhydrat nicht isoliert werden. Das erhaltene asparaginsaure Kupfer wurde durch eine Kupferbestimmung identifiziert.

0,1274 g der Substanz gaben 0,0516 g CuO.

Gefunden
32,33 % Cu

Die ätherischen Auszüge beider Fraktionen wurden aus Mangel an Material vereinigt, mit konzentrierter Salzsäure versetzt und

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 410.

[2]) Untersuchungen über Aminosäuren, Proteine und Polypeptide. S. 64, Berlin 1906.

zur Trockne eingeengt. Ein Versuch, den Rückstand aus konzentrierter Salzsäure umzukrystallisieren, schlug fehl: es entstand ein dicker schwarzer Sirup. Der letztere wurde in destilliertem Wasser gelöst, durch Kochen mit Tierkohle möglichst entfärbt, wiederum zur Trokne eingeengt und dann aus konzentrierter Salzsäure auskrystallisiert. Die ausgeschiedenen Krystalle wurden ebenso umkrystallisiert, in Ammoniak gelöst, eingeengt, mit eiskaltem Wasser mehrmals bearbeitet, in siedendem Wasser gelöst und aus heißer Lösung mit absolutem Alkohol ausgefällt. Die Substanz wurde vorläufig im Exssikator, dann bei 110° getrocknet und einer Stickstoffbestimmung unterworfen.

0,1458 g der Substanz gaben 12,9688 mg N

Gefunden	Berechnet für
8,90 % N	$C_9H_{11}O_2N$
	8,48 % N

Nach abermaliger Bearbeitung mit Salzsäure, Ammoniak und Wasser wurde wieder ein krystallinischer Niederschlag in der geschilderter Weise mit absolutem Alkohol ausgefällt und mehrmals aus Wasser umkrystallisiert.

0,0933 g der Substanz gaben 7,7112 mg N.

Gefunden
8,26 % N

D. Spaltung mit Barytwasser.

Nach einem Vorversuche mit 5,0 g Thyreoglobulin wurden 60,3 g lufttrockenes, pulverisiertes Thyreoglobulin in einem Rundkolben unter Rückflußkühler auf einem Paraffinbade mit 2300 ccm heißgesättigtem Barytwasser 30 Stunden lang gekocht. Das Thyreoglobulin löste sich sehr leicht. Die rötlich gefärbte Lösung wurde vom ausgeschiedenen Ätzbaryt abfiltriert. Das Filtrat wurde durch Kohlensäure und verdünnte Schwefelsäure vom überschüssigen Baryum befreit. Die erhaltene rotgelb gefärbte Flüssigkeit gab keine Biuretreaktion, enthielt kein freies Jod, dagegen fiel die Probe auf Jod mit Chloroform nach Nitrit- und Schwefelsäurezusatz schwach positiv aus. Die Flüssigkeit wurde dem Drechsel[1])-Henzeschen[2]) Verfahren folgend zur

[1]) Zeitschr. f. Biol. 33, N. F. 15, 99, 1896.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 73, 1903.

Darstellung des eventuell vorhandenen Dijodtyrosins (resp. der Drechselschen[1]) Jodgorgosäure) verarbeitet. Zu diesem Zwecke wurde die Flüssigkeit, solange noch ein Niederschlag entstand, mit 10prozentiger Silbernitratlösung versetzt. Das Ausgeschiedene wurde abfiltriert, mit Wasser nachgewaschen, in verdünnter Salpetersäure gelöst. Das bei der Neutralisation der Salpetersäurelösung mit verdünntem Ammoniak Ausgeschiedene wurde abfiltriert, mit Wasser etwas nachgewaschen, in heißem Wasser suspendiert und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat, das keine anorganische Jodverbindungen, dagegen organisches Jod enthielt, wurde zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs eingeengt, durch Tierkohle entfärbt und stark eingedampft. Die erhaltenen sehr spärlichen Krystalle erschienen jodfrei, gaben eine scharf positive Millonsche Reaktion. Leider konnte eine Reinigung und genauere Analyse der Substanz wegen mangels an Material nicht erfüllt werden. Die Mutterlauge der Krystalle schied nach Alkoholzusatz einen amorphen Niederschlag ab, enthielt anorganisches Jod.

Das Filtrat von dem beschriebenen Silberniederschlage wurde zur Entfernung des Silbers mit Schwefelwasserstoff zersetzt, mit Schwefelsäure angesäuert und durch Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der entstandene Niederschlag wurde wie üblich von Schwefel- und Phosphorwolframsäure durch Barytwasser befreit; das überschüssige Baryum wurde durch Kohlen- und verdünnte Schwefelsäure entfernt. Die erhaltene Lösung enthielt kein anorganisches, dagegen organisch gebundenes Jod. Mehrere Versuche, eine organische Jodverbindung durch Ausfällen mittels Silbernitratlösung, direkte Krystallisation usw. zu isolieren, blieben erfolglos. Beim Eindampfen der Lösung erschien ein sirupöser Rest, der eine positive Probe auf anorganisches Jod gab, dagegen fiel die Millonsche Reaktion negativ aus. Das Filtrat vom Phosphorwolframatniederschlage enthielt kein Jod. Es wurde in üblicher Weise von Phosphorwolframsäure befreit, durch Kochen mit Tierkohle entfärbt und zur Entfernung der leicht krystallisierenden Partien, bis noch eine Krystallisation entstand, eingeengt. Die vereinigten Mutterlaugen wurden unter Abfiltrieren des Ausgeschiedenen

[1]) Zeitschr. f. Biol. 33, N. F. 15, 99, 1896.

zu dickem Sirup eingeengt. Der letztere wurde mit siedendem absolutem Alkohol wiederholt extrahiert. Die vereinigten alkoholischen Auszüge wurden zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde wieder mit Alkohol ausgezogen, das Ungelöste abfiltriert. Dieses Mal löste sich der Rückstand nach Abdampfen des Alkohols in Alkohol vollständig. Aus der dunkelbraun gefärbten alkoholischen Lösung wurde die α-Pyrrolidincarbonsäure nach dem Verfahren von Kossel und Dakin[1]) isoliert. Zu diesem Zwecke wurde die alkoholische Lösung eingeengt und mit gesättigter alkoholischer Sublimatlösung, bis noch ein Niederschlag entstand, versetzt. Nach 24 Stunden wurde das Ausgeschiedene abfiltriert, in Wasser aufgeschwemmt, von Quecksilber durch Schwefelwasserstoff, von Salzsäure durch Silbersulfat und von Schwefelsäure durch Barytwasser befreit. Das erhaltene Filtrat wurde durch Kochen mit Tierkohle entfärbt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit heißem Alkohol aufgenommen und die Lösung erkalten gelassen. Die ausgeschiedenen spärlichen Krystalle wurden abgesaugt und wieder in heißem Alkohol gelöst. Zu der erkalteten konzentrierten Flüssigkeit wurde vorsichtig eine geringe Menge Äther zugefügt. Die abgeschiedenen schneeweißen Krystalle wurden abgesaugt, gepulvert und bei 110° bis zur Gewichstkonstanz getrocknet. Das Präparat schmolz bei 205 bis 206°. Wegen Mangels an Material konnte keine direkte Identifizierung des Präparats durch Elementaranalyse ausgeführt werden. Deswegen wurde durch Kupferoxyd das Kupfersalz des racemischen Prolins dargestellt, mit demselben bei der Analyse der durch fraktionierte Destillation erhaltenen Produkte dargestellten Körper vereinigt, zweimal umkrystallisiert, bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und der Kupferbestimmung unterworfen.

0,1480 g der Substanz gaben 0,0401 CuO.

Gefunden	Berechnet für
21,62 % Cu	$C_{10}H_{16}O_4N_2Cu$
	21,81 % Cu

E. Spaltung durch Verdauungsfermente.

Pepsin. 20,0 g lufttrockenes pulverisiertes Thyreoglobulin wurden im Wärmeschrank bei 35° bis 37° C mit 1100 ccm

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 410.

$2\,^1/_2\,\%$ HCl und 0,1 g Pepsin sicc. Grübler zwei Monate lang stehen gelassen. Das Gemisch wurde öfters umgerührt und auf Pepsin durch Verdauungsproben mit Fibrin geprüft. Nötigenfalls wurde Pepsin zugefügt. Der zum Ende des Versuches abgeschiedene braune Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Der Niederschlag wurde in schwach alkalisiertem Wasser gelöst (Natriumcarbonatlösung), abfiltriert, durch Salzsäure wiederum bei schwach saurer Reaktion ausgefällt, abermals ebenso gelöst, abfiltriert, ausgefällt, und endlich auf dem Filter mit Wasser nachgewaschen.

In allgemeiner Charakteristik zeugte der Niederschlag keinen wesentlichen Unterschied vom dem bei Oswald[1]) und war dem durch Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure erhaltenen Jodothyrin[2]) ähnlich.

	Niederschlag	Filtrat
Biuretreaktion	negativ	positiv
Millonsche Probe	„	„
Ehrlichsche Aldehydreaktion[3])	„	„
Adamkjewitschsche Probe	„	„
Xantoproteinreaktion	positiv	„
Anorganisches Jod	nicht vorhanden	
Organisches Jod	vorhanden	

Der Niederschlag wurde analog dem früher für Jodothyrin beschriebenen Verfahren[4]) untersucht.

Versuch 1. Der Niederschlag im Wasser aufgeschwemmt, gerührt, in einen Papinschen Kessel gebracht. Druck 5 bis 6 Atmosphären. Versuchsdauer 1 Stunde.

Millonsche Probe	negativ
Ehrlichsche „	„

Versuch 2. Dasselbe Versuchsmaterial. Druck im Papinschen Kessel 5 bis $5\,^1/_2$ Atm. Versuchsdauer 2 Stunden.

Ehrlichsche Probe	positiv
Millonsche „	negativ

---

[1]) l. c. 43.

[2]) Baumanns Thyreojodin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 319 u. a. Oswald, l. c. 47.

[3]) Nach Rhode, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 161, und Steensma (ebenda 47, 25) ausgeführt.

[4]) Nürenberg, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 10, 125.

Versuch 3 mit selbem Materiale bei denselben Versuchsbedingungen und Versuchsdauer 3 Stunden gab denselben Erfolg. Die Anwesenheit von anorganischen Jodverbindungen wurde konstatiert.

Versuch 4. Das gebliebene Versuchsmaterial wurde geteilt. Einer Portion (a) wurde Cerussa anglica zugefügt. Die andere unverändert gelassen (Portion b). Beide Portionen wurden im Papinschen Kessel 3 Stunden lang bei 5 bis 6 Atm. stehen gelassen.

	Portion a	Portion b
Ehrlichsche Probe	deutlich positiv	
Millonsche Probe	deutlich positiv	

Erepsin. Die Erepsinlösung wurde nach Cohnheims[1]) Vorschrift dargestellt. Ein mittelgroßer Hund wurde 5 Tage lang mit Fleisch gefüttert. Dem im Laufe der Verdauung frisch getöteten Tiere (Durschneidung der Halsgefäße) wurde der Dünndarm entnommen, aufgeschlitzt, mit Wasser abgespült. Die Dünndarmschleimhaut wurde mit einem scharfkantigen Glasstücke abgeschabt, gründlich mit Glassand zerrieben, zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 $^0/_0$) extrahiert (6 und 12 Stunden lang) und mit einer Tinkturenpresse ausgepreßt. Die erhaltene Flüssigkeit wurde durch ein Koliertuch durchgelassen und mit gesättigter Ammonsulfatlösung (3 Teile auf 2 Teile der Flüssigkeit) gefällt. Der entstandene Niederschlag wurde 72 Stunden lang dialisiert, das trübe Dialisat abfiltriert. Das Filtrat enthielt Spuren von coagulablem Eiweiß. 500 ccm der Erepsinlösung wurden dem obenerwähnten, mit Natriumcarbonat etwas überneutralisierten Filtrate des pepsinischen Verdauungsgemisches, dessen Volumen 950 ccm groß war, zugefügt. Das Gemisch wurde 6 Monate lang unter Chloroform- und Tuluolzusatz, ständiger Umrührung und mehrmaliger Zufügung frisch bereiteter Erepsinlösung im Brutschrank bei 35° bis 37° C der Verdauung unterworfen. Der beim Abfiltrieren des Gemisches auf dem Filter hinterbliebene, sehr spärliche braune Niederschlag reichte leider für eine genaue Untersuchung nicht. Die Proben auf Jod mit Chloroform fielen beim Nitrit- und Schwefelsäurezusatz, sowie nach Verschmelzung mit Soda

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 451 u. a.

und Salpeter negativ aus. Das Filtrat, das sich bei Sättigung mit Ammonsulfat trübte, wurde ebenso wie bei der Barytspaltung dem Henzeschen Verfahren folgend bearbeitet. Der Silberniederschlag enthielt keine organischen Jodverbindungen. Beim Ausfällen des Filtrats vom Silberniederschlage mit Phosphorwolframsäure gingen dieselben in Niederschlag über, während das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlage kein Jod enthielt. Wegen Mangels an Material konnte keine weitere Untersuchung der erhaltenen Spaltungsprodukte ausgeführt werden.

Trypsin. 127,5 lufttrockenes pulverisiertes Thyreoglobulin wurden in 2550 ccm eine 0,2 prozentige Natriumcarbonatlösung gebracht, mit 1,0 g Pankreatin Rhenania versetzt und 8 Monate lang im Wärmeschrank bei 35° bis 37° bei Chloroform- und Toluolzusatz unter öfterer Umrührung der Verdauung überlassen. Pankreatin wurde unter Kontrolle der Verdauungsprobe mit Fibrin nötigenfalls portionsweise zugefügt (im ganzen wurden 3,5 g des genannten Präparats verbraucht).

Das anfangs trübe Gemisch wurde zum Ende des Versuches klar und schied einen dunkelbraun gefärbten Niederschlag ab. Der letztere wurde abfiltriert, mit Wasser gründlich nachgewaschen. Der in kaltem und heißem Wasser, Alkohol, Ammoniak, Äther, Aceton und Chloroform unslösliche Niederschlag löste sich leicht in alkoholischem Ammoniak (2 Teile Alkohol absolut., 1 Teil Ammoniak), um beim Abdampfen des letzteren wieder auszufallen. Der zweimal im alkoholischen Ammoniak gelöste und unter Abdampfen des Ammoniaks ausgefällte Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Er enthielt kein anorganisches, dagegen viel organisches Jod (die Probe auf Jod mit Chloroform fiel nur nach der Verschmelzung positiv aus), gab keine Biuretreaktion, keine Millonsche und Ehrlichsche Reaktion, löste sich leicht im Eisessig und 25 $^0/_0$iger Schwefelsäure. Trotz wiederholter Extrahierung mit Eisessig, Entfärbung durch Tierkohle, konnte keine Krystallisation beim Abdampfen der Lösung erreicht werden. Beim Abdampfen der Essigsäure auf dem Wasserbade bei 40° Temperatur des letzteren hinterblieb ein rot gefärbter ölartiger klarer Rest. Derselbe löste sich teilweise in heißem Wasser. Die Probe auf Jod mit Chloroform nach Nitrit- und Schwefel-

säurezusatz fiel im Filtrate positiv aus. Eine genauere Untersuchung erschien wegen Mangels an Material und Verunreinigung mit anorganischen Jodverbindungen unerfüllbar.

Das Filtrat des Gemisches der tryptischen Verdauung, das eine schwach positive Biureteaktion gab, wurde neutralisiert, mit Schwefelsäure bis zum 5 %igen Gehalt derselben angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der erhaltene Niederschlag wurde von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure üblicherweise durch Barytwasser befreit. Er enthielt organisches Jod. Die wässerige Lösung des Ausgefällten wurde nach Drechsel-Henzeschen Verfahren zur Darstellung des Dijodthyrosins bearbeitet. Bei Ausfällen mit Silbernitrat entstand ein ganz spärlicher Niederschlag, der nach einer Bearbeitung mit Schwefelwasserstoff und nachheriger Einengung auf dem Wasserbade anorganisches Jod enthielt. Eine organische Jodverbindung krystallinisch zu isolieren gelang nicht.

Das Filtrat vom Phosphorwolframatniederschlage enthielt viel anorganisches Jod. (Die Probe auf Jod mit Chloroform nach Nitrit- und Schwefelsäurezusatz fiel stark positiv aus.)

Auch hier erschienen die Bemühungen, dem Henzeschen Verfahren folgend das Dijodthyrosin zu isolieren, erfolglos.

3. Verteilung des Stickstoffs unter den Spaltungsprodukten des Thyreoglobulins.

Die quantitative Untersuchung der hydrolytischen Spaltungsprodukte des Thyreoglobulins wurde genau nach den Vorschriften von Kossel und Kutscher ausgeführt.

Dazu wurden 16,1502 g des lufttrockenen Thyreoglobulins verwendet.

1,4660 g desselben Präparats verloren beim Austrocknen im Wärmekasten bei 110° 0,1638 g Wasser.

Dementsprechend wurde $16{,}1502 - \frac{0{,}1638 \cdot 16{,}1502}{1{,}4660} = 14{,}3457$ g trockenen Thyreoglobulins, das 15,6 % Stickstoff enthielt, mit Schwefelsäure unter obenerwähnten Bedingungen gespalten. Die Ergebnisse sind aus folgender Tabelle ersichtlich:

Tabelle I.

Verteilung des Stickstoffs unter den Spaltungsprodukten d. Thyreoglobulins.

	Stickstoffmenge g		Prozente des Gesamtstickstoffs	
Gesamtmenge	2,238	—	100,00	—
A. Basenstickstoff	0,699	—	31,23	—
Davon in a) Ammoniak	—	0,118	—	5,27
b) Histidin	—	0,110	—	4,92
c) Arginin	—	0,195	—	8,71
d) Lysin	—	0,276	—	12,33
B. Stickstoff in unbekannter Form	1,539	—	68,77	—
Davon a) im ersten schwarzen Niederschlage	—	0,073	} —	} 31,77
b) im Baryt-Magnesianiederschlage	—	0,438		
c) in den Niederschlägen bei der Trennung der Arginin-Histidinfraktion	—	0,052		
d) in den Niederschlägen bei der Trennung des Histidins vom Arginin	—	0,081		
e) in den Niederschlägen bei der Trennuug des Lysins von der „Aminosäurenfraktion“	—	0,067		
f) im Filtrat nach der Entfernung des Lysins („Aminosäurenfraktion“)	—	0,828		37,00
		2,238		100,00

Tabelle II.

	g	Prozente
Zersetztes Thyreoglobulin	—	—
Ammoniak	0,143	—
Histidin	0,406	—
Arginin	0,606	—
Lysin	1,439	—

Zusammenfassung.

1. Die 5 von mir aus den Schilddrüsen von Ochsen auf verschiedene Weise den Oswaldschen Angaben folgend dargestellten Präparate von Jodthyreoglobulin zeigen große Ähnlichkeit untereinander in ihrer elementaren Zusammensetzung

und stehen in dieser Beziehung dem Oswaldschen Thyreoglobulin aus demselben Materiale sehr nahe.

2. Unter den hydrolytischen Spaltungsprodukten des Jodthyreoglobulins konnte ich Arginin, Histidin (?), Lysin, Tyrosin, Glutaminsäure, Glykokoll, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Asparaginsäure und α-Pyrrolidincarbonsäure nachweisen.

3. Was die jodbindende Gruppe der natürlich vorkommenden Eiweißkörper anbelangt, liefern meine Untersuchungen an 2 Präparaten des Jodothyrins (bei einer Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure, bei der andern durch Pepsinverdauung dargestellt) weitere Beweise für die Vermutung, daß die Aminosäuren der aromatischen Reihe,[1]) hauptsächlich Tyrosin und Tryptophan im Jodthyreoglobulin (eventuell ein Teil der genannten Körper) jodhaltig sind.

4. Zwischen den Spaltungsprodukten des Thyreoglobulins bei Barytspaltung konnte ich das Dijodtyrosin nicht isolieren; es liegt aber die Vermutung nahe, daß derselbe Körper vorhanden und unter den Bearbeitungsbedingungen unter Abspaltung des Jods zerstört war.

5. Da die Versuche, aus den bei der Spaltung des Jodthyreoglobulins durch Verdauungsfermente erhaltenen Produkten jodierte Aminosäuren zu isolieren wegen der Abspaltung des Jods bei der Reinigung derselben mißlangen, beabsichtige ich, das Jodthyreoglobulin nach den neueren Angaben über jodhaltige Polypeptide von E. Abderhalden[2]) zu untersuchen. Dazu sollte auf Grund der bekannten Tatsachen (L. Scott) die Spaltung durch Trypsin[3]) am besten geeignet sein und der bei diesem Spaltungsversuche abgeschiedene Niederschlag die meiste Aufmerksamkeit verdienen.

6. Was die Spaltung der Pepsina-Albumosen durch Erepsin anbelangt, soll der Versuch mit größerem Materiale und mit besseren Präparaten der Fermentlösung wiederholt werden.

---

[1]) Ausführliche Literaturangaben s. Nürenberg, Zur Kenntnis des Jodothyrins. Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 10, 125.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 7, 1237, 41. Jahrg., 1908. Abderhalden und Guggenheim Synthese von Polypeptiden. Derivate des 2,5-Dijod-l-tyrosins.

[3]) Scott, L. Über Jodospongin. Diese Zeitschr. 1, 4, 1906.

Untersuchungen über das diastatische Ferment der Leber.

Von

Paul Zegla.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 5. Januar 1809.)

Auch heute noch ist die Existenz einer spezifischen Leberdiastase keineswegs so allgemein anerkannt, daß es sich bei Untersuchungen auf diesem Gebiete erübrigt, auf diese prinzipielle Frage einzugehen. Noch immer stellen namhafte Forscher das Vorkommen eines der Leber selbst zugehörigen amylolytischen Fermentes in Abrede und halten die Diastase des Blutes und der Lymphe für das bei der Umwandlung des Leber-Glykogens in Zucker wirksame Ferment. Ja einige bestreiten überhaupt die enzymatische Natur des Glykogenabbaues und erklären diesen für einen rein vitalen, an die Tätigkeit der Leberzelle geknüpften Prozeß.

Claude Bernard[1]) selbst, der Entdecker des Glykogens, stellte sich entschieden auf den Standpunkt, daß die Zuckerbildung in der Leber ein fermentativer Vorgang sei, nicht ein Resultat des Zellstoffwechsels. Er legte die Leber in Alkohol, wusch aus und trocknete und erhielt, wenn er die Leberpulpa auskochte, keinen Zucker, wohl aber beim Befeuchten mit Wasser und schwachem Erwärmen.

v. Wittich[2]) gelang es dann 1873 aus der blutleeren, in Alkohol gehärteten und dann zerriebenen Leber das Enzym

---

[1]) Claude Bernard, Compt. rend. de l'académie des sciences, Sitzung vom 24. September 1855.

[2]) v. Wittich, Über das Leberferment. Pflügers Archiv 7, 28, 1873.

mit Glycerin zu extrahieren und die diastatische Wirksamkeit dieses Leberglycerinauszuges nachzuweisen.

Paton[1]), der anfangs Pavy gegenüber die Beweiskraft dieser Methode bestritt, weil durch die Alkoholbehandlung nicht jede Protoplasmatätigkeit ausgeschaltet sei, mußte später seinen Irrtum eingestehen, nachdem Tebb[2]) gezeigt hatte, daß selbst ein halbes Jahr unter Alkohol gelegenes Leberpulver noch imstande ist, Stärke und Maltose in Dextrose zu verwandeln.

Nun wurde von Dastre[3]) ein andrer Einwand gegen alle bisherigen Versuche geltend gemacht, daß nämlich die Zuckerbildung in obigen Fällen auf Bakterienwirkung zurückzuführen sei; er begründete dies damit, daß eigene, unter antiseptischen Kautelen (Erwärmen auf 55°, Abkühlen auf 0°, Zusatz von 10°/₀ Natriumborat) ausgeführte Untersuchungen keine Saccharifikation in den Leberextrakten gezeigt hätten. Aber die für die Beweiskraft der Dastreschen Versuchsanordnung erforderliche Voraussetzung, daß durch jene Einwirkungen das Ferment nicht geschädigt wird, ist durch nichts bewiesen.

Erst E. Salkowski[4]) (1891) wandte eine Methode an, welche die Antisepsis wahrte, dabei aber die Wirksamkeit des Ferments fast unbeeinträchtigt ließ und es dennoch ermöglichte, die Lebenstätigkeit der Leberzellen selbst auszuschalten. Sie bestand in der Anwendung des Chloroforms. Salkowski zeigte, daß mit Chloroformwasser digerierter, filtrierter und ausgewaschener Leberbrei das Glykogen sowohl wie zugesetzte Stärke völlig verzuckerte; im Kontrollversuch, bei dem das Enzym durch Siedehitze zerstört war, fand sich reichlich Glykogen und nur spurenweis Zucker.

Eine ganz ähnliche Methodik, nämlich Zusatz einer 1°/₀igen Fluornatriumlösung zum Leberbrei, wodurch nachgewiesenermaßen jede Protoplasmawirkung aufgehoben, das Ferment jedoch intakt

---

[1]) N. Paton, A further study of hepatic glycogenesis. Journ. of physiol. 22, 121.

[2]) Tebb, Hydrolysis of glycogen. Ibid. 22, 423.

[3]) Dastre, Recherches sur les ferments hépatiques. Arch. de physiol. norm. et pathol. 21, 69, 1888.

[4]) Salkowski, Über die Autodigestion der Organe. Festschrift für v. Leyden 1891, 90.

gelassen wird, lieferte Arthus und Huber[1]) sowie Lussana[2]) und Pick[3]) ganz analoge Resultate.

Gegenüber diesen übereinstimmenden Ergebnissen können die negativen Resultate, die Cavazzani[4]) bei der Injektion von Methylviolett und Chinin erhielt, nicht ins Gewicht fallen. Cavazzani, der Hauptvertreter der Lehre vom rein vitalen, durch die Leberzelle selbst, ohne ein Ferment, bewirkten Glykogenabbau, nahm an, daß Methylviolett und Chinin in gleicher Weise wirken wie Chloroform und Fluornatrium, also nur die Lebensphänomene der Zellen, nicht aber enzymatische Vorgänge beeinflussen. Da er nun nach intravenöser Injektion jener beiden Stoffe geringere Werte für die Verzuckerung fand als in der Leber von Kontrolltieren, glaubte er die Lehre vom Leberferment ablehnen zu müssen.

Die Versuche Cavazzanis haben aber von Bial[5]) und Pick eine eingehende Kritik erfahren. Beide weisen mit Recht darauf hin, daß (ganz abgesehen von Einwänden technischer Art) der Nachweis, daß jene chemischen Agenzien die diastatischen Prozesse nicht hemmen, von dem italienischen Autor nur für den Einfluß der Blut- und Speicheldiastase auf Stärke geführt sei, nicht aber für Leberdiastase und Glykogen. Pick (l. c. 175) hat denn auch in der Tat gefunden, daß Methylviolett eine leichte, Chinin eine deutlich hemmende Wirkung bei der Glykogenhydrolyse durch Leberdiastase ausübt.

In neuester Zeit hat dann Wohlgemuth[6]) noch einen weiteren, wohl unanfechtbaren Beweis dafür erbracht, daß die Glykogenumwandlung in der Leber ein fermentativer Vorgang ist, der nicht an den Stoffwechsel der lebenden Zelle gebunden

[1]) Arthus und Huber, Ferments solubles et ferments figurés. Arch. de Physiol. 1892, 651.

[2]) F. Lussana, Sugli scambi respiratori del fegato e sul valore in rapporto all' amilolisi epatica. Arch. di fisiol. 2, 4, 445, 1905.

[3]) F. Pick, Über das glykogenspaltende Ferment der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 163, 1903.

[4]) Cavazzani, Über die Veränderungen der Leberzellen usw. Pflügers Archiv 57, 81, 1894.

[5]) Bial, Ist die Zuckerbildung in der Leber Funktion diastatischer Enzyme oder vitaler Tätigkeit der Leberzellen? Du Bois' Archiv 1901, 247.

[6]) Wohlgemuth, J., Untersuchungen über die Diastasen. Diese Zeitschr. 9, 29, 1908.

ist, sondern von dieser losgelöst werden kann. Nach dem Vorgehen von E. Buchner bei der Darstellung der zellfreien Zymase zerrieb Wohlgemuth die entblutete und zerkleinerte Leber eines Hundes gründlich mit Quarzsand und setzte sie in der Buchnerschen Presse einem Druck von 200 Atmosphären aus; nur der Preßsaft, welcher bei einem Druck von 100 bis 200 Atmosphären abfloß, wurde untersucht, und alle diese Fraktionen zeigten eine hohe diastatische Kraft. — Da bei diesem energischen Verfahren die lebende Zelle absolut sicher vernichtet wird, also eine vitale Funktion ausgeschlossen ist, muß hiernach die rein enzymatische Natur der Zuckerbildung in der Leber als bewiesen gelten.

Auch ein anderes Bedenken bezüglich der Art der Diastase hat sich als hinfällig erwiesen. Seegen[1]) sowie Musculus und v. Mering[2]) fanden, daß Glykogen bei der Einwirkung von Speichel- und Pankreasdiastase nur bis zur Maltose, durch das Leberferment aber bis zur Glucose abgebaut wird. Darin sahen einige Forscher (Seegen, Kratschmer) ein Hindernis für die Annahme einer Diastasewirkung bei der Entstehung des Leberzuckers aus Glykogen. Aber Bial[3]) wies nach, daß auch im Blutserum eine Diastase vorkommt, die Glykogen in Traubenzucker verwandelt, so daß also die Dextrosebildung keine spezifische Eigentümlichkeit des Leberferments darstellt, und jener prinzipielle Unterschied fortfällt.

Derselbe Autor jedoch, der diese Schwierigkeit behob, brachte selbst ein neues retardierendes Moment in die jetzt scheinbar gesicherte Lehre von der Existenz einer spezifischen Leberdiastase.

Aus eben jenem Grunde, aus dem Bial die Berechtigung ableitete, das glykogenspaltende Agens als eine echte Diastase aufzufassen, nämlich aus ihrer Übereinstimmung mit dem diastatischen Ferment des Blutes, aus demselben Grunde schloß er nun, daß die Leberdiastase nichts andres sei als in die Leber gelangendes Blutferment. Er leugnet also das Vorkommen einer

[1]) Seegen, Centralbl. f. med. Wiss. 14, 850, 1876.

[2]) Musculus und v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 403, 1878/79.

[3]) Bial, Über das diastatische Ferment des Blut- und Lymphserums. Pflügers Archiv 52, 149, 1892.

von der Leber selbst erzeugten Diastase und sieht in der Annahme einer Umwandlung des Glykogens durch das diastatische Blut- und Lymphferment „die einfachste und ungezwungenste Erklärung, auch für die Mechanik der Zuckerbildung in der Leber des lebenden Tieres"; für die überlebende Leber gilt ihm diese Auffassung sogar „als nach allen Richtungen bewiesen" (l. c. 255).

In der Tat spricht vieles für die Bialsche Anschauung, zu der sich auch Röhmann[1]), Neumeister[2]) und Schlesinger[3]) bekennen, eine Anschauung, die übrigens bereits 1872 von Tiegel[4]) und 1889 von Dubourg[5]) vertreten worden war.

In dem Verhalten der Leber- und Blutdiastase besteht wirklich eine weitgehende Übereinstimmung, wie erst in neuerer Zeit wieder von Borchardt[6]) gezeigt wurde. Beide wirken auf Stärke, Glykogen und Maltose; die Abbauprodukte, welche dabei entstehen, sind bei beiden die gleichen: Dextrine und Traubenzucker; Erwärmung und Alkoholeinwirkung beeinflussen sie in nahezu gleicher Weise. Ferner besteht zumeist bei verschiedenen Tieren ein Parallelismus in der Stärke der diastatischen Wirkung von Leber und Blut (Pugliese und Domenichini[7]).

Weiterhin ließ sich gegen viele Versuche, die die Wirksamkeit einer der Leber spezifischen Diastase beweisen sollten, mit Recht einwenden, daß das Organ nicht völlig blutfrei war. Das gilt auch für diejenigen Fälle, in denen die Drüse entbluteter Tiere verwandt wurde, denn diese enthält (wie zahlreiche eigene Versuche lehrten) stets noch Reste von Blut, die nicht vernachlässigt werden dürfen.

---

1) Röhmann und Bial, Über den Einfluß der Lymphagoga auf die diastatische Wirkung der Lymphe. Pflügers Archiv 55, 419, 1893.

2) Neumeister, Lehrbuch d. physiol. Chem. 2. Aufl., 1897, S. 132.

3) Schlesinger, Über den Ursprung des diastatischen Fermentes im Blute. Deutsche med. Wochenschr. 34, 593, 1908.

4) Tiegel, Über eine Fermentwirkung des Blutes. Pflügers Archiv 6, 391, 1872.

5) Dubourg, Recherches sur l'amylase de l'urine. Thèse de Paris 1889.

6) Borchardt, Über das zuckerbildende Ferment der Leber. Pflügers Archiv 100, 259, 1903.

7) Pugliese und Domenichini, Contributo allo studio dell' enzima saccharificante del fegato. Archivio Farmacol. 12, Heft 4, 1907.

Dieses Bedenken fällt aber fort bei den Untersuchungen von v. Wittich, Arthus und Huber, Tebb, Pick, Borchardt, Bang und Wohlgemuth, bei denen ausdrücklich hervorgehoben wird, daß die Lebern so lange von der Pfortader aus durchspült wurden, bis das Spülwasser aus den Lebervenen farblos abfloß. Die diastatische Wirkung ist hier unzweifelhaft am blutfreien Organ nachgewiesen. Daß auch die Lymphe, deren Diastase nach Bial-Röhmann hier in Betracht kommt, völlig entfernt ist, läßt sich freilich nicht sinnfällig beweisen. Aber gerade die Hypothese von der Beteiligung der Lymphdiastase am Glykogenabbau der Leber steht auf sehr schwachen Füßen.

Röhmann und Bial leiten sie aus der Beobachtung ab, daß unter Einwirkung der Heidenhainschen Lymphagoga 1. Ordnung (Stauung der V. cava, Injektionen von Pepton und anderen Stoffen) die Intensität der Lymphdiastase erhöht und gleichzeitig die Saccharifikation in der Leber (bei unveränderter Blutdiastase) gesteigert wird.

Aber selbst einer ihrer Mitarbeiter, Borchardt, wendet hiergegen ein, daß diese Wirkung der Lymphagoga sich auch so erklären läßt, daß sie nicht als Reiz auf die Capillaren der Gefäße, sondern als Reiz auf die Leberzellen wirken, so daß diese mehr Ferment absondern, das dann naturgemäß in die Lymphe gelangt (l. c. 262).

Daß es sich in der Tat so verhält, ist 2 Jahre später von Kusmine[1]) experimentell erwiesen werden. Diese zeigte, daß die Lymphagoga typische morphologische Veränderungen an den Leberzellen hervorrufen (Verdichtung des Protoplasmas, Undeutlichwerden der Zellgrenzen) und speziell auch das Glykogen ganz oder doch in erheblichem Maße zum Schwinden bringen.

Ferner ist die diastatische Kraft der Lymphe, wie Röhmann und Bial[2]) selbst gefunden haben, noch geringer als die des Blutserums, das bereits in seiner Wirksamkeit hinter der Leberdiastase zurücksteht (Borchardt, l. c. 296, Pick, l. c. 174). Man müßte also, wenn man sich auf den Standpunkt von Bial

---

[1]) K. Kusmine, Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehung der Lymphe. 6. Mitteilung: Über den Einfluß der Lymphagoga (Lebergifte) auf die Leber. Zeitschr. f. Biol. 46, 554, 1905.

[2]) Bial, Über das diastatische Ferment des Blut- und Lymphserums. Pflügers Archiv 52.

und Röhmann stellt, annehmen, daß die Diastase dort, wo sie entsteht, spärlicher ist als an den Orten, zu denen sie erst sekundär hingelangt. Das ist doch sehr unwahrscheinlich.

Auch Pflüger[1]) hat sich gegen die Ableitung der Leberdiastase von der der Gewebssäfte gewandt und mit Recht betont, daß man ebensogut das Blutferment als ausgewandertes Leberferment hinstellen könnte (l. c. 380).

Nach alledem scheint uns die Bial-Röhmannsche Auffassung nicht mehr haltbar. Es liegt unseres Erachtens kein Grund vor, die Entstehung des in der Leber nachgewiesenen Ferments anderswohin zu verlegen als in die Leberzelle selbst. „Der Ort, wo die Enzyme entstehen, sind die lebendigen Zellen, besonders die der Drüsen. Wie wir uns die Diastase der Speicheldrüsen und des Pankreas in den Zellen der letzteren gebildet denken, so werden wir die Leberdiastase als Produkt der Leberzelle betrachten" (Pflüger, l. c. 380).

Daß diese Auffassung von einer spezifischen Leberdiastase nicht identisch ist mit der rein vitalen Auffassung der Glykogenumwandlung, wie sie Cavazzani vertritt, bedarf wohl nach dem oben Gesagten keiner näheren Ausführung.

Methodik.

Zum Studium des saccharifizierenden Leberferments haben sich alle früheren Forscher vor Wohlgemuth, also noch bis in die jüngste Zeit, einer nicht nur sehr komplizierten, sondern auch ihr Ziel nur auf Umwegen erreichenden Methodik bedient.

Da es an einem zuverlässigen Verfahren zur quantitativen Bestimmung diastatischer Organfermente fehlte, mußten sie darauf verzichten, die Fermentwirkung selbst zu ermitteln, was sie eigentlich erstrebten. Statt dessen bestimmten sie an dem die Leberdiastase enthaltenden Extrakte die Menge der produzierten Dextrose oder des abgebauten Glykogens. Natürlich mußte diese Bestimmung auch an einer Kontrollprobe, in der das Ferment zerstört war, durchgeführt werden.

Das war eine langwierige Methode, die zudem große Übung im quantitativen Arbeiten erforderte. Was aber noch weit wichtiger

[1]) Pflüger, Das Glykogen, 2. Aufl., 1905.

ist: der ermittelte prozentische Glykogenumsatz war wegen des wechselnden Glykogengehalts der Leber kein direkter Maßstab für die Fermentmenge, die dabei wirksam gewesen war. Denn die gleiche Quantität Diastase muß bei geringem Glykogenvorrat prozentualiter mehr Zucker bilden als bei hohem. Bang[1]) ist der Ansicht, daß diese Frage, ob man ein Recht habe, aus dem beobachteten Glykogenumsatz auf eine bestimmte Fermentquantität zu schließen, wohl alle früheren Forscher von dem Studium des Leberenzyms abgehalten hat (l. c. S. 415). Der genannte Autor hat bezüglich dieser wichtigen Fehlerquelle besondere Versuche angestellt und muß immerhin zugeben, daß man aus dem prozentualen Umsatz des Glykogens nur annähernd auf die Fermentmenge schließen kann, und auch dies nur dann, wenn nicht allzu kleine Glykogenquantitäten vorliegen. So weit ich sehe, hat nur Bang selbst diesen Fehler durch Zusatz von Glykogen zu Lebern, die daran sehr arm waren, zu eliminieren gesucht.

Sodann ist noch auf ein anderes prinzipielles Bedenken aufmerksam zu machen, welches der alten Methode, das diastatische Vermögen nach der Menge der entstandenen Endprodukte zu beurteilen, anhaftet. Es ist das die durch Bial erwiesene Tatsache, daß die Diastase durch eben jene Endprodukte in ihrer Kraft gehemmt wird, so daß Fermentquantität und Menge der gebildeten Abbauprodukte in keinem einfachen Verhältnis stehen.

Als letzter und schwerwiegendster Einwand gegen eine Methodik, die sich auf die Bestimmung der Dextrose stützt, kommt in Betracht, daß neben dem Abbau des Glykogens zu Traubenzucker eine Zerstörung der Glucose durch Glykolyse stattfindet. Das ist ein Faktor, dessen Größe man gar nicht kennt, da quantitative Untersuchungen über Glykolyse nicht vorliegen, und den man auch nicht schätzungsweise in Rechnung ziehen kann, da man nicht weiß, ob Diastasewirkung und Glykolyse parallel laufen.

Alle diese Schwierigkeiten und Fehlerquellen vermeidet die

---

[1]) Bang, Ljungdahl und Bohm, Untersuchungen über den Glykogenumsatz in der Kaninchenleber. I. Mitteil. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 408, 1907.

Methode Wohlgemuths[1]), welche die diastatische Leistung als solche zu ermitteln erlaubt, also im Gegensatz zu den früher angewandten eine direkte Untersuchungsmethode der Fermentwirkung ist. Dazu hat sie vor jener Methode der quantitativen Glykogenbestimmung den Vorzug großer Einfachheit.

Das Verfahren besteht darin, daß man in Reagensgläsern absteigende Mengen von Leberpreßsaft mit der gleichen Menge (5 ccm) einer 1 $^0/_0$igen Stärkelösung versetzt, etwas Toluol auf jedes Röhrchen tut, verkorkt und alle Gläschen 24 Stunden lang im Thermostaten einer Temperatur von 38° C aussetzt. Nach Beendigung der Digestion wird zu jedem der Röhrchen, nachdem sie mit Wasser aufgefüllt sind, ein Tropfen $^n/_{10}$-Jodlösung gegeben und umgeschüttelt. Wo noch unverdaute Stärke ist, zeigen die Gläschen eine blaue und blauviolette Farbe, während in allen Röhrchen, die einen gelben bis roten Farbenton aufweisen, die Stärke völlig bis mindestens zum Erythrodextrin abgebaut ist. Dasjenige Reagensglas, das gerade noch positive Jodreaktion am Blauviolett erkennen läßt, bezeichnet die Grenze (limes) der Fermentwirksamkeit, denn in ihm ist noch eine Spur unabgebauter Stärke. Das vorhergehende Röhrchen, welches durch das Ausbleiben der Blaufärbung beweist, daß sämtliche Stärke in ihm völlig umgewandelt ist, dient zur Berechnung der diastatischen Kraft (D), die auf 1 ccm der Fermentlösung bezogen wird.

Enthielt dieses Röhrchen z. B. 0,2 ccm der Fermentlösung, so waren 0,2 ccm Leberpreßsaft gerade imstande, in 24 Stunden bei 38° C 5 ccm der 1 $^0/_0$igen Stärkelösung vollkommen abzubauen, also 1 ccm fünfmal so viel = 25 ccm Stärkelösung. Folglich ergibt sich als diastatische Kraft von 1 ccm in 24 Stunden bei 38° C:

$$D_{24\,h}^{38^0} = 25.$$

Diese Wohlgemuthsche Methode wurde bei den im folgenden mitgeteilten Untersuchungen angewandt. Indem ich bezüglich aller Einzelheiten auf die Originalarbeit verweise, will ich nur diejenigen Besonderheiten hervorheben, die sich speziell

[1]) J. Wohlgemuth, Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. Diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

bei der Anwendung der Methode auf das Leberferment ergaben.

Der Leberpreßsaft, aus der durch Ausspülen und nach dem Zerschneiden durch nochmaliges Auswaschen sorgfältig entbluteten Leber unter der Handpresse gewonnen, wurde ohne jede Verdünng[1]) mittels einer in $^{1}/_{100}$ ccm geteilten Pipette auf eine Reihe von Reagensgläsern verteilt. Das Pipettieren geht ohne jede Schwierigkeit, wenn man nur beim Pressen durch Verwendung starker Tücher dafür gesorgt hat, daß nicht Leberbrei in Substanz sich dem Saft beimischen kann; am besten eignet sich das für die Buchnersche Presse gearbeitete Preßtuch.

Der Toluolzusatz ist wegen der langen Digestionsdauer von 24 Stunden nötig, um bakterielle Zersetzungen auszuschließen. Der lange Aufenthalt der Fermentlösung im Brutschrank ist seinerseits bedingt durch die relativ geringe diastatische Kraft der Leber.

Nach dem Herausnehmen der Gläser aus dem Thermostaten zeigen diese einen trüben Bodensatz, der von ausgefallenen Eiweißstoffen der Leber herrührt; man darf daher nicht, wenn man für die Endreaktion klare Lösungen erhalten will, direkt mit Wasser auffüllen und mit Jodlösung versetzen (wie bei Speichel- oder Pankreasdiastase), sondern man muß, was Wohlgemuth auch besonders betont, die über dem trüben Satz stehende Flüssigkeit abgießen und sie mit Wasser verdünnen. Wenn man dies beachtet, bekommt man nach Jodzusatz stets scharfe Farbunterschiede. Dabei ist es für den Ausfall der Jodreaktion gleichgültig, ob man die Trennung der klaren Flüssigkeit von dem trüben Satz quantitativ vornimmt oder ½ bis 1 ccm von ihr im Reagensglas zurückläßt.

Die Mengenverhältnisse der Leberdiastase in der Zeit nach dem Tode.

Mit dieser Methode wurden von mir auf Veranlassung von Herrn Dr. Wohlgemuth einzelne gerade jetzt zur Diskussion

[1]) Nur bei den ersten Versuchen und später dann, wenn Röhrchen mit Bruchteilen eines Decigramms beschickt werden mußten, wurde der Preßsaft mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

stehende Fragen über das Verhalten der Leberdiastase in Angriff genommen und außerdem ein Punkt, welcher bisher noch gar nicht untersucht worden war. Es ist das die Frage nach der Fermentquantität unmittelbar nach dem Tode und in den darauffolgenden Stunden. Gerade diese Frage aber ist für alle auf den Menschen selbst bezügliche Fermentstudien von großer Wichtigkeit, da die Organe der Leiche gewöhnlich erst viele Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kommen. Darf man nun die Befunde, die an einer Leber einen Tag nach dem Tode erhoben wurden, als normale ansehen, und wenn nicht, kann man wenigstens annähernd auf die Verhältnisse zur Zeit des Todes rückschließen und so Vergleichswerte für die am Tiere ermittelten Daten gewinnen?

Die nachfolgende Untersuchungsreihe gibt darüber Auskunft. Es kamen 15 Lebern zur Untersuchung, 5 von Kaninchen, 5 von Hunden, 1 Rinderleber und 4 Lebern vom Menschen. Bei den Kaninchen und Hunden wurde die Drüse unmittelbar nach dem Tode entnommen und sofort verarbeitet; die Rinderleber (direkt vom Schlachthof bezogen) kam 2 Stunden nach der Schlachtung zur Untersuchung. Die Sektion der menschlichen Leichen wurden 12, 19, 21 Stunden post mortem ausgeführt; in einem Falle lag der Eintritt des Todes sogar 4 Tage zurück.

In allen Fällen wurden die Lebern durch Ausspülen und Auswaschen aufs gründlichste von Blut befreit, bindegewebige Anteile entfernt und der Preßsaft in der oben beschriebenen Weise mittels Handpresse gewonnen. Von dem Preßsaft wurde eine Portion sofort angesetzt und 24 Stunden unter Toluol im Brutschrank gehalten, der Rest des Saftes, gleichfalls mit Toluol versetzt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt und 24 Stunden später, eventuell auch noch nach 48 und mehr Stunden in derselben Weise untersucht.

Alles Nähere, insbesondere jede Abweichung von der Regel ist aus den Tabellen ersichtlich, die ich nunmehr folgen lasse.

Versuch 1.

Kaninchenleber. Gesundes, nicht operiertes Tier, durch Entbluten getötet.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C
1,0	+	+
0,64	+	+
0,4	+	+
0,25	limes	limes
0,16	—	—
0,1	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 12,5$	$D^{38°}_{24h} = 12,5$

Versuch 2.

Kaninchenleber. Versuchstier, doppelseitige Vagusdurchscheidung, künstliche Atmung, Ouabaininjektion.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C
1,0	+	+
0,64	+	+
0,4	+	+
0,25	+	limes
0,16	+	—
0,1	limes	—
	$D^{38°}_{24h} = 31,25$	$D^{38°}_{24h} = 12,5$

Versuch 3.

Kaninchenleber. Gesundes Tier, entblutet.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C	Nach 48stündiger Aufbewahrung bei 16° C
1,0	+	+	+
0,64	+	limes	limes
0,4	limes	—	—
0,25	—	—	—
0,16	—	—	—
0,1	—	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 7,81$	$D^{38°}_{24h} = 5$	$D^{38°}_{24h} = 5$

Versuch 4.

Kaninchenleber. Tier durch Nackenschlag getötet.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C	Nach 48stündiger Aufbewahrung bei 16° C
1,0	+	+	+
0,64	+	+	+
0,4	+	+	+
0,25	+	limes	limes
0,16	limes	—	—
0,1	—	—	—
	$D^{38^\circ}_{24h} = 20$	$D^{38^\circ}_{24h} = 12,5$	$D^{38^\circ}_{24h} = 12,5$

Versuch 5.

Kaninchenleber. Tier durch Nackenschlag getötet.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C
1,0	+	+
0,64	+	+
0,4	+	+
0,25	+	limes
0,16	limes	—
0,1	—	=
	$D^{38^\circ}_{24h} = 20$	$D^{38^\circ}_{24h} = 12,5$

Versuch 6.

Hundeleber. Gesunder Hund, durch Entbluten getötet; Leber in der Fleischmaschine zerkleinert, Brei in 3 Portionen zu je 100 g geteilt, zu jeder 10 ccm 0,85$^0/_0$ Kochsalzlösung zugesetzt. 1. Portion sofort gepreßt, 2. Portion 24, 3. Portion 48 Stunden unter Toluol bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann gepreßt. In allen 3 Reihen ist für die Mengen unter 0,1 ccm der Preßsaft 10fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C	Nach 48stündiger Aufbewahrung bei 16° C
1,0	+	+	+
0,64	+	+	+
0,4	+	+	+
0,25	+	+	+
0,16	+	+	+
0,1	+	+	+
0,064	+	limes	limes
0,04	+	—	—
0,025	limes	—	—
0,016	—	—	—
0,01	—	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 125$	$D^{38°}_{24h} = 50$	$D^{38°}_{24h} = 50$

Versuch 7. Hundeleber. 2 Portionen Leberbrei à 45 g, zu jeder 5 ccm 0,85% Kochsalzlösung. Im übrigen wie in Versuch 6.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stündiger Aufbewahrung bei 16° C
0,1	+	+
0,064	+	+
0,04	+	limes
0,025	limes	—
0,016	—	—
0,01	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 125$	$D^{38°}_{24h} = 78{,}1$

Versuch 8. Hundeleber vom normalen Tier.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24stünd. Aufbewahrung bei 16° C	Nach 48stünd. Aufbewahrung bei 16° C	Nach 72stünd. Aufbewahrung bei 16° C
0,1	+	+	+	+
0,064	+	+	+	+
0,04	+	+	limes	limes
0,025	limes	limes	—	—
0,016	—	—	—	—
0,01	—	—	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 125$	$D^{38°}_{24h} = 125$	$D^{38°}_{24h} = 78{,}1$	$D^{38°}_{24h} = 78{,}1$

Versuch 9.

Hundeleber. Gesunder Hund, entblutet.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24 stündiger Aufbewahrung bei 16° C
0,1	+	+
0,064	+	limes
0,04	+	—
0,025	limes	—
0,016	—	—
0,01	—	—
	$D_{24h}^{38°} = 125$	$D_{24h}^{38°} = 50$

Versuch 10.

Hundeleber. Nicht operierter Hund, Tod aus unbekannter Ursache.

Menge des Preß-saftes	Sofort unter-sucht	Nach 24-stünd. Aufbewahrung bei 16° C	Nach 48-stünd. Aufbewahrung bei 16° C	Nach 72-stünd. Aufbewahrung bei 16° C	Nach 144-stünd. Aufbewahrung bei 16° C	Nach 168-stünd. Aufbewahrung bei 16° C
0,1	+	+	+	+	+	+
0,064	+	+	+	+	+	+
0,04	+	limes	limes	limes	limes	limes
0,025	limes	—	—	—	—	—
0,016	—	—	—	—	—	—
0,01	—	—	—	—	—	—
	$D_{24h}^{38°} = 125$	$D_{24h}^{38°} = 78{,}1$	$D_{24h}^{38°} = 78{,}1$	$D_{24h}^{38°} = 78{,}1$	$D_{24h}^{38°} = 78{,}1$	$D_{24h}^{38°} = 78{,}1$

Versuch 11.

Rinderleber. 2 Stunden nach der Schlachtung ausgepreßt.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht	Nach 24 stündiger Aufbewahrung (bei 16°)		Nach 48 stündiger Aufbewahrung bei 16° C
		des Breies	des Preßsaftes	
1,0	+	+	+	+
0,64	+	limes	limes	limes
0,4	+	—	—	—
0,25	limes	—	—	—
0,16	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—
	$D_{24h}^{38°} = 12{,}5$	$D_{24h}^{38°} = 5$	$D_{24h}^{38°} = 5$	$D_{24h}^{38°} = 5$

Versuch 12.

Menschenleber, normal, 4 Tage nach dem Tode, hatte auf Eis gelegen.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht = ca. 4 Tage post mortem	Nach 24 stündiger Aufbewahrung bei 16° = ca. 5 Tage post mortem	Nach 48 stündiger Aufbewahrung bei 16° = ca. 6 Tage post mortem
1,0	+	+	+
0,64	limes	limes	limes
0,4	—	—	—
0,25	—	—	—
0,16	—	—	—
0,1	—	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 5$	$D^{38°}_{24h} = 5$	$D^{38°}_{24h} = 5$

Versuch 13.

Menschenleber. Frau, Tod an Nachblutung nach Exstirpation des carcinomatösen Uterus. Leber 19 Stunden post mortem herausgenommen.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht = 20 h p. m.	Nach 24stünd. Aufbewahr. bei 16° = 44 h p. m.	Nach 48stünd. Aufbewahr. bei 16° = 68 h p. m.	Nach 96stünd. Aufbewahr. bei 16° = 116 h p. m.
1,6	+	+	+	+
1,0	+	limes	limes	limes
0,64	limes	—	—	—
0,4	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 5$	$D^{38°}_{24h} = 3,1$	$D^{38°}_{24h} = 3,1$	$D^{38°}_{24h} = 3,1$

Versuch 14.

Menschenleber. Leber einer Frau, die an Extrauteringravidität und Peritonitis gestorben war, 21 Stunden p. m. herausgenommen.

Menge des Preßsaftes	sofort untersucht = 22 h p. m.	Nach 24 stündiger Aufbew. bei 16° = 46 h p. m.	Nach 48 stündiger Aufbew. bei 16° = 70 h p. m.
1,0	+	+	+
0,64	+	+	+
0,4	+	+	limes
0,25	limes	limes	—
0,16	—	—	—
0,1	—	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 12,5$	$D^{38°}_{24h} = 12,5$	$D^{38°}_{24h} = 7,8$

Versuch 15.

Menschenleber. Leber eines Mannes, bei dem sich eine mit der linken Hirnhemisphäre kommunizierende Knochencyste des Hinterhauptsbeines fand. Sektion 22 Stunden post mortem.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht = 14 h p. m.	Nach 24 stündiger Aufbew. bei 16° = 38 h p. m.	Nach 48 stündiger Aufbew. bei 16° = 62 h p. m.
1,6	+	+	+
1,0	+	limes	limes
0,64	limes	—	—
0,4	—	—	—
0,25	—	—	—
0,16	—	—	—
	$D_{24h}^{38°} = 5$	$D_{24h}^{38°} = 3,1$	$D_{24h}^{38°} = 3,1$

In diesen 15 Fällen zeigt also 13 mal die diastatische Kraft der Leber eine Abnahme nach dem Tode, wenn der Preßsaft oder der Organbrei (Versuch 6, 7 und 11) unter Toluol bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird.

Nur zweimal (Versuch 1 und 12) bleibt der Wert derselbe. Versuch 12 wird weiter unten zu besprechen sein; für Fall 1 ist zu bemerken, daß hier (wegen der geringen Menge an Preßsaft) die Quantität des Ferments nach 48 und mehr Stunden nicht bestimmt werden konnte. Daß aber die Abnahme auch erst nach dem zweiten Tage einsetzen kann, beweist Versuch 8. Die Regel allerdings ist, daß bereits 24 Stunden nach dem Tode ein deutlicher Fermentschwund zu konstatieren ist. Er ist am bedeutendsten dort, wo der Ausgangswert für die Diastase hoch ist, daher besonders augenfällig in den Versuchen mit Hundeleber, wo ich die höchsten Diastasewerte ($D_{24h}^{34°} = 125$) fand. So sinkt die Fermentkonzentration in Versuch 6 und 9 von $D_{24h}^{38°} = 125$ unmittelbar nach dem Tode auf $D_{24h}^{38°} = 50$ innerhalb 24 Stunden, also um 60 %. Auch in Fall 2, wo mit 31,25 ein für die Kaninchenleber sehr hoher Wert vorliegt, beträgt die Abnahme auf 12,5 in 24 Stunden 60 %. Ebenso bei der Rinderleber (12,5 : 5), wo allerdings aus der einen Untersuchung nichts auf die normale Höhe der Leberdiastase beim Rind geschlossen werden kann. In allen andern Fällen sinkt die Enzymmenge nicht unter die Hälfte des Anfangswertes.

Ein mehr als einmaliges Absinken habe ich auch inner-

halb längerer Zeit nicht beobachtet; das Niveau, auf welches der Wert nach 1 oder 2 Tagen gesunken ist, scheint, wie aus den Versuchen 8 und besonders 10 hervorgeht, dasselbe zu bleiben noch bis zu 7 Tagen nach dem Tode.

Die untersuchten menschlichen Lebern (Versuch 13, 14, 15) lieferten analoge Resultate wie die Tierorgane. 14 bis 22 Stunden post mortem untersucht, zeigen sie um die 40. und 70. Stunde nach dem Tode einen Abfall der diastatischen Kraft von 5 auf 3,1, von 12,5 auf 7,8. Auch hier war bei einer bis auf 4 Tage ausgedehnten Uutersuchungsreihe (Nr. 13) nur ein einmaliges Absinken festzustellen.

Hieraus erklärt sich wohl auch ohne weiteres, daß in Fall 12 der diastatische Wert unverändert derselbe bleibt. Die Leber kam erst 4 Tage nach dem Tode zur Untersuchung; um diese Zeit pflegt, wie bereits ausgeführt, der Fermentschwund schon eingetreten zu sein, und da eine mehrmalige Verminderung nicht statthat, zeigt sich an allen drei Tagen der gleiche Wert von $D_{24h}^{38^\circ} = 5$, der in diesem Falle wohl als Minimalwert aufzufassen ist.

Es mag hier erwähnt werden, daß auch für die Muskeldiastase in 2 Fällen ein Absinken nach dem Tode unter den gleichen Bedingungen konstatiert werden konnte. Der in der Buchnerpresse gewonnene Muskelpreßsaft, von 2 gesunden, entbluteten Kaninchen stammend, zeigte nach derselben Methode untersucht die Werte:

	Sofort untersucht	Nach 24 stündiger Aufbewahrung bei 16° C	Nach 48 stündiger Aufbewahrung bei 16° C
Versuch 16: $D_{24h}^{38^\circ} =$	5	3,1	3,1
Versuch 17: $D_{24h}^{38^\circ} =$	6,25	5	5

Die oben aufgeworfene Frage muß also dahin beantwortet werden, daß die an mehr als 24 Stunden alten menschlichen Lebern ermittelten Diastasewerte nicht ohne weiteres in Parallele gesetzt werden dürfen mit den Ergebnissen des Tierversuchs,

sondern daß der nachgewiesene Fermentschwund bei solchen Vergleichen in Rechnung gezogen werden muß. Dagegen scheint uns nichts im Wege zu stehen, Fermentwerte menschlicher Lebern, die innerhalb gleicher Zeiträume untersucht sind, untereinander zu vergleichen.

Als mögliche Ursachen der Fermentabnahme kommen wie bei jeder Enzymhemmung viele Momente in Betracht. Es kann sich um die Wirkung eines Antiferments handeln, das in der Zeit nach dem Tode auftritt, es können Abbauprodukte der Diastase selbst hemmend wirken, es können schließlich Produkte der Autolyse das Ferment schädigen. Die erste Annahme ist die unwahrscheinlichste, da das Vorkommen einer spezifischen, natürlichen (nicht künstlich erzeugten) Antidiastase nicht sicher steht. Die Hemmung der Diastase durch ihre eigenen Abbauprodukte (Lea[1]) ist wohl kaum so stark, daß man aus ihr allein jenen starken Fermentverlust erklären könnte.

Am wahrscheinlichsten ist wohl die Schädigung von Stoffen abzuleiten, die sich bei der Autolyse der Leber bilden, insbesondere den sauren Eiweißspaltprodukten.[2]) Von den in

Versuch 8 (vergl. oben).

Hundeleber. 72 Stunden bei 16° C unter Toluol aufbewahrter Preßsaft.

Menge des Preßsaftes	Ohne Zusatz	+ 1 ccm 1°/₀₀ Milchsäurelösung
1,0	+	+
0,64	+	+
0,4	+	+
0,25	+	+
0,16	+	limes
0,1	+	—
0,064	+	—
0,04	limes	—
0,025	—	—
0,016	—	—
0,01	—	—
	$D_{24h}^{38°} = 78,1$	$D_{24h}^{38°} = 20$

[1]) Lea, Journ. of Physiol. 11, 234, 1890.
[2]) J. Wohlgemuth, l. c.

Betracht kommenden organischen Säuren konnte ich von der Milchsäure nachweisen, daß sie die Leberdiastase in $1^{0}/_{00}$ Lösung stark hemmt (Versuch 8).

Verhalten der Leberdiastase bei verschiedenen Glykosurien und beim Diabetes.

Eine zweite wichtige Frage, die in letzter Zeit besonders von Bang[1][2]) in Angriff genommen wurde, ist die, ob die Zuckerproduktion beim Diabetes und den verschiedenen Glykosurien bedingt ist durch eine vermehrte Tätigkeit der Leberdiastase. Bang hat mit seinen Mitarbeitern Ljungdahl und Bohm zu diesem Zweck den Glykogengehalt und -umsatz der Kaninchenleber untersucht und ist dabei zu wertvollen Ergebnissen gekommen. Es lag nahe, diese Untersuchungen mit der Methode der quantitativen Fermentbestimmung von Wohlgemuth aufzunehmen, um zu sehen, ob auf diesem direkteren Wege dieselben Resultate zu erhalten sind.

Ich wählte zum Studium der durch Gifte und nervöse Reize erzeugten Glykosurien die gleichen Versuchstiere wie Bang, Kaninchen, und prüfte an ihnen das Verhalten der Leberdiastase bei Phlorizin-, Phloretin- und Adrenalinglykosurie sowie bei Vagusdurchschneidung und Nackenschlag. Ferner kamen zur Untersuchung 2 Fälle von menschlichem Diabetes und 3 Fälle von Pankreasdiabetes beim Hunde.

a) Phlorizin- und Phloretinglykosurie.

Schon v. Mering[3]), der Entdecker der „Phlorizindiabetes", zeigte, daß sowohl das Phlorizin als auch das Phloretin, welches bei der Hydrolyse des Glykosids neben Dextrose entsteht,

---

[1]) Bang, Ljungdahl und Bohm, Untersuchungen über den Glykogenumsatz in der Kaninchenleber. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 408 bis 430, 1907 (1. Mitteil.); 10, 1 bis 34 (2. Mitteil.); 10, 312 bis 319 (3. Mitteil.).

[2]) Bang, Untersuchungen über das Verhalten der Leberdiastase bei Pankreasdiabetes. Ibid. 10, 320 bis 323, 1907.

[3]) v. Mering, Über experimentellen Diabetes. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23, 142, 1887.

Zuckerausscheidung hervorruft. Bang hat nun in Gemeinschaft mit Ljungdahl und Bohm (op. cit. 3. Mitteil. S. 314f.) einen interessanten Unterschied zwischen der Wirkung des Glykosids und der seiner zuckerfreien Komponente gefunden. Während nämlich der Glykogenumsatz nach Phlorizinvergiftung nur in zweien seiner Versuche wesentlich erhöht war, zeigte sich, daß nach Injektionen von Phloretin die „Fermentproduktion" in der Leber in allen Fällen unzweifelhaft gestiegen war.

Nun bestimmt ja Bang nicht eigentlich die Fermentproduktion, sondern schließt nur auf sie aus dem ermittelten Glykogenumsatz. Die recht erhebliche Verstärkung desselben nach Phlorizininjektion in jenen 2 Versuchen (Nr. 142 und 143) sieht er wegen des geringen Glykogenvorrats dieser beiden Fälle als nicht beweisend an.

Als ich die Angaben Bangs über die differente Wirkung des Glykosids und seiner Komponente mit Wohlgemuths Methode nachprüfte, die ja unabhängig von der Menge des präformierten Leberglykogens ist, habe ich diesen bedeutenden Unterschied nicht konstatieren können; vielmehr zeigten sich beide Gifte fermentsteigernd. Ich gebe aber zu, daß die Zahl der Fälle, über die ich zurzeit verfüge, viel geringer ist als die stattliche Reihe von Versuchen, die Bang und seine Mitarbeiter aufweisen können.

Von 3 Kaninchen, die etwa die gleichen Mengen Phlorizin (auf das Körpergewicht bezogen) wie bei Bang erhielten (siehe die folgenden Protokolle), zeigten 2 (Versuch 19 und 20) eine deutliche Vermehrung der Leberdiastase, nämlich den Wert $D_{24\,h}^{38^\circ} = 20$, während dieser für die normale Kaninchenleber nicht über 12,5 hinausgeht. Im 3. Falle (Nr. 21) war allerdings die Fermentvermehrung ausgeblieben.

Das Phlorizin war in allen Fällen nach Auflösung in wässeriger Piperazinlösung körperwarm in die Bauchhöhle injiziert worden. In allen Fällen trat Glykosurie ein. Die Tiere wurden $^1/_2$ bis 1 Stunde nach dem Erscheinen des Zuckers im Harn, d. h. nicht ganz 2 Stunden nach der Einspritzung, getötet.

Versuch 19.

Kaninchen, 1700 g schwer, gesund.
11 h 10: 2 g Phlorizin intraperitonal injiziert.
12 h 0 : Glykosurie.
1 h 0 : Tötung durch Entbluten.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	+
0,16	limes
0,1	—
	$D^{38^\circ}_{24h} = 20$

Versuch 20.

Kaninchen, 1320 g schwer, gesund.
11 h 45: 1 g Phlorizin intraperitoneal injiziert.
12 h 30: Glykosurie.
1 h 30: Tötung durch Entbluten.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	+
0,16	limes
0,1	—
	$D^{38^\circ}_{24h} = 20$

Versuch 21.

Kaninchen, 1550 g schwer, gesund.
11 h 30: 1 g Phlorizin intraperitoneal injiziert.
1 h 30: Glykosurie.
2 h 0 : Tötung durch Entbluten.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	limes
0,16	—
0,1	—
	$D^{38^\circ}_{24\,h} = 12,5$

In den beiden Fällen von Phloretinglykosurie wurde eine Erhöhung der Fermentmenge, und zwar nur auf denselben Wert wie bei den Phlorizinversuchen, nämlich $D^{38^\circ}_{24\,h} = 20$, gefunden. Die Kaninchen erhielten, wie bei Bang, 0,6 g Phloretin (in Piperazinlösung) intraperitoneal injiziert. Bereits nach 1 Stunde war Zucker im Harn zu konstatieren.

Versuch 22.

Kaninchen, 1200 g schwer, gesund.
10 h 45: 0,6 g Phloretin intraperitoneal injiziert.
11 h 45: Glykosurie.
12 h 45: Tötung durch Entbluten.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	+
0,16	limes
0,1	—
	$D^{38^\circ}_{24\,h} = 20$

Versuch 23.

Kaninchen, 1070 g schwer, gesund.
10 h 25: 0,6 g Phloretin intraperitoneal injiziert.
11 h 25: Glykosurie.
12 h 0 : Tötung durch Entbluten.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1% Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	+
0,16	limes
0,1	—
	$D^{38^\circ}_{24h} = 20$

Die vermehrte Fermentproduktion der Leber bei der Phlorizin- und Phloretinglykosurie ist ein neuer Beweis dafür, daß es sich bei dieser Vergiftung nicht ausschließlich um eine größere Permeabilität der Niere für den in normaler Menge vorhandenen Blutzucker handelt. Der Befund steht in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Gläßner und E. P. Pick[1]), die nachwiesen, daß beim Phlorizindiabetes auch die Leber das Gift gebunden enthält, und daß die Injektion des Extraktes einer solchen Leber bei gesunden Tieren Glykosurie erzeugt (l. c. S. 484). Der Angriffsort des Phlorizins scheint also nicht nur die Niere zu sein, sondern das Gift wirkt auch auf die Leber im Sinne einer vermehrten diastatischen Tätigkeit; ob direkt oder nur reflektorisch von der Niere aus, ist eine Frage, die auch Bang offen lassen muß.

b) Adrenalinglykosurie.

Übermäßige Zuckerbildung auf Kosten des Glykogens ist auch als Ursache der Adrenalinglykosurie nachgewiesen worden [Doyon[2]), Drummond und Paton[3]), Bierry und Gatin-Gruzewska[4]), Iwanoff[5])]. Bei vergleichenden Untersuchungen

[1]) Gläßner u. E. P. Pick, Über Phlorizindiabetes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 473, 1907.

[2]) Doyon, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 4, 66, 1904.

[3]) Drummond und Paton, Journ. of Physiol. 31, 92, 1904.

[4]) Bierry und Gatin-Gruzewska, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 58, 902, 1905.

[5]) Iwanoff, Dissertat., Petersburg 1905, und Centralbl. f. Physiol. 19, 891, 1905.

des Muskel- und Leberglykogens adrenalinvergifteter Tiere hat aber Agadschanianz[1]) im Laboratorium von E. Salkowski gezeigt, daß die Wirkung auf die Muskulatur viel eklatanter ist als auf die Leber. Das Muskelglykogen war in allen seinen 4 Versuchen völlig zum Schwund gebracht, dagegen das Leberglykogen nur in 2 Fällen, in den beiden anderen waren noch deutliche Mengen davon erhalten.

Dem letzten Befund entspricht die eine meiner Beobachtungen, wo bei starker Adrenalinglykosurie sich ein etwa normaler Wert für die Leberdiastase fand:

Versuch 24.

Kaninchen, 1500 g schwer, gesund.
10 h 25: 1 ccm Suprarenin. hydrochlor. 1 ‰ in physiol. Kochsalzlösung subcutan injiziert.
1 h 0 : Glykosurie.
2 h 30: Tötung durch Entbluten.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	limes
0,25	—
0,16	—
0,1	—
	$D_{24h}^{38°} = 7,81$

Ein zweites Kaninchen wies dagegen nach Einspritzung der gleichen Adrenalindosis eine sehr große Diastasemenge in der Leber auf:

Versuch 25.

Kaninchen, 1500 g schwer, gesund.
1 h 0: 1 ccm Suprarenin. hydrochlor. 1 ‰ in physiol. Kochsalzlösung subcutan injiziert.
3 h 30: Glykosurie.
4 h 30: Tötung durch Halsschnitt.

[1]) Agadschanianz, diese Zeitschr. 2, 148, 1907.

Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Stärkelösung
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	+
0,16	+
0,1	limes
0,064	—
0,04	—
	$D_{24h}^{38^\circ} = 31,25$

Es ist das der höchste Fermentwert, den ich bei der Kaninchenleber beobachtet habe. Er fand sich nur noch einmal, nämlich bei einem Fall von Vagusdurchschneidung (siehe Versuch 2).

c) Glykosurie nach Vagusdurchschneidung.

Die bloße Durchschneidung des N. vagus, der die zentripetale Bahn von der Leber zum Bernardschen Zuckerzentrum bildet, wirkt ganz wie eine Reizung des zentralen Vagusendes, nämlich erregend auf das Zuckerzentrum [Eckhard[1])] und ruft kurzdauernde Glykosurie hervor. 1 Stunde nach der Vagusdurchschneidung zeigte die Leber in dem zitierten Versuch 2 jenen hohen Diastasewert von 31,25 für $D_{24h}^{38^\circ}$.

Leider ist der Fall noch durch eine (zu anderem Zweck ausgeführte) Injektion von dem Pfeilgift Ouabain kompliziert. Daß aber die Durchschneidung des N. vagus allein imstande ist, den Fermentgehalt der Leber zu erhöhen, ist bereits in der wiederholt zitierten Arbeit Bangs (2. Mitteil. S. 19) ausgeführt. Da mir nur dieser eine Versuch zur Verfügung stand, muß ich es mir versagen, auf die äußerst wichtigen Schlußfolgerungen einzugehen, die Bang aus seinen zahlreicheren Untersuchungen bezüglich der Herkunft des Zuckers nach Vagusreizung (Muskeldiabetes) zieht.

d) Fermentvermehrung nach dem Nackenschlag.

Den Untersuchungen Bangs verdanken wir noch die Kenntnis einer anderen bisher unbekannten Tatsache. Bang

[1]) Eckhard, Beiträge z. Anat. u. Physiol. 8, 77, 1879.

fand, daß der Glykogenumsatz in der Leber derjenigen Kaninchen, die er, abweichend von seinem sonstigen Verfahren durch einen Schlag mit dem Hammer auf den Hinterkopf töten ließ, ein weit bedeutenderer war als in den übrigen Fällen. Eine eigens in dieser Richtung ausgeführte systematische Untersuchung lehrte ihn dann, daß in der Tat der Nackenschlag an sich (nicht der Tod des Tieres) den Glykogenumsatz der Leber steigert. Da der Schlag gerade die Gegend des Zuckerzentrums trifft, hält es Bang für wahrscheinlich, daß wir es hier, ganz wie bei der Piqûre, mit einer nervösen Erregung dieses Bernardschen Zentrums zu tun haben. Er erinnert daran, daß auch in der menschlichen Pathologie das Auftreten von Diabetes nach Erschütterung des Kopfes beobachtet ist.

Ich konnte mich in 2 Fällen davon überzeugen, daß der Nackenschlag beim Kaninchen eine Hyperproduktion der Leberdiastase hervorruft. Die Versuche sind bereits oben angeführt (Nr. 4 und 5); sie zeigen beide den erhöhten Wert von $D^{30^\circ}_{24h} = 20$. Auch die Angabe Bangs, daß die Fermentproduktion gleich nach Einwirkung des mechanischen Reizes einsetzt, findet in diesen Versuchen eine Bestätigung, denn die Enzymvermehrung wurde an der sofort nach dem Schlage herausgenommenen Leber festgestellt.

e) Verhalten der Leberdiastase beim Diabetes.

Im auffälligsten Gegensatz zu der Bedeutung, die man seit Claude Bernard der Leber für die Entstehung der Zuckerkrankheit und insbesondere für die Pathogenese des Pankreasdiabetes (Sauerbeck,[1]) Pflüger,[2])) beimißt, stehen unsere geringen Kenntnisse von dem Verhalten des glykogenspaltenden Leberferments bei dieser Krankheit. Zwar liegen eine ganze Anzahl von Beobachtungen über die Diastase bei Diabetes vor, sie beziehen sich aber vorwiegend auf die Diastase des Blutes (Lépine, Kaufmann, Barral, Bainbridge u. Beddard, Schlesinger, Müller), zum Teil auf die des Harns (Plósz u. Tiegel, Lépine, Loeper u. Ficai) und des Stuhls (Müller). Angaben über die Leberdiastase beim Dia-

[1]) Sauerbeck, Virchows Archiv 177. Supplem., 1—122, 1904.

[2]) Pflüger, Das Glykogen, 496, 2. Aufl., 1905: „Die Leber ist in erster Linie das funktionell kranke Organ des Diabetikers".

betes finde ich dagegen nur bei Bainbridge und Beddard[1]) sowie bei Bang[2]).

Die erstgenannten Autoren haben sowohl menschliche Fälle von Diabetes wie solche nach Pankreasexstirpation bei Katzen untersucht; sie können aber über das quantitative Verhalten des diastatischen Leberenzyms nichts aussagen, weil ihnen entsprechende Beobachtungen gesunder Fälle fehlen („No attempt was made to ascertain whether the amount of enzyme present was greater or less than that found in normal animals, l. c. p. 95) Gerade die Mengenverhältnisse der Diastase aber interessieren hier ausschließlich, da man wegen der bekannten Glykogenverarmung der diabetischen Leber versucht ist, eine gesteigerte Fermenttätigkeit anzunehmen.

Ebensowenig kann Bang seine an pankreasdiabetischen Hunden ermittelten Werte für die Leberdiastase mit denen gesunder Hunde vergleichen, da seine ausgedehnten Untersuchungen über das Leberferment normaler Tiere sich auf Kaninchen beziehen. (Beim Kaninchen ist eine Pankreasexstirpation aus anatomischen Gründen unmöglich, andererseits konnte Bang aus äußeren Gründen jene großen Versuchsreihen an Hunden nicht ausführen).

Was nun Bang in seinen 3 Fällen von Pankreasdiabetes findet, ist, daß der ermittelte Glykogenumsatz, im Durchschnitt 9,5%, „einer Fermentquantität entspricht, die nur unwesentlich die bei normalen, wohlgenährten Kaninchen [!] gefundenen Werte übersteigt“ (l. c. p. 322).

Nun geht aus meinen oben mitgeteilten Versuchen (1—10) an gesunden Hunden hervor, daß die diastatische Kraft der Hundeleber in der Regel viel größer ist als die der Kaninchenleber. Hält man dies mit Bangs Befund zusammen, so ergibt sich eine namhafte Verminderung der Leberdiastase beim pankreasdiabetischen Hunde. Denn Diastasewerte gleich denen der Kaninchenleber weist die normale Hundeleber gewöhnlich nicht auf.

Wenn also bereits Bang die Tatsache auffällt, daß die

---

[1]) Bainbridge u. Beddard, The diastatic ferment in the tissues in diabetes mellitus. Bio-Chemic. Journ. 2, 89. 1906.

[2]) Bang, Untersuchungen über das Verhalten der Leberdiastase bei Pankreasdiabetes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 320, 1907.

Fermentproduktion beim pankreasdiabetischen Hunde nicht vermehrt ist, trotzdem doch die Leber kein oder nur eine Spur Glykogen enthielt, so verstärkt sich das Befremden noch, wenn man, wie wir, in Wirklichkeit eine Fermentverminderung aus Bangs Versuchen entnimmt.

Die 3 Fälle von Pankreasdiabetes beim Hunde, über die ich verfüge, liefern eine Bestätigung jener Tatsache.

Versuch 26.

Schwarzer Spitz. Totalexstirpation des Pankreas. Danach durchschnittlich 4—5 % Zucker im Harn. 10 Tage nach der Operation wird der Hund durch Entbluten getötet. Die Leber ist stark verfettet, sie wird mit physiologischer Kochsalzlösung von der Pfortader aus durchspült, bis das Wasser farblos abläuft, in der Fleischmaschine zerkleinert, mit Quarzsand verrieben und in der Buchnerpresse zerpreßt. Es werden 2 Fraktionen gewonnen, die erste bei einem Druck von 50—100 Atmosphären, die zweite bei 300 Atmosphären. Leberpreßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	1. Fraktion	2. Fraktion
0,1	+	+
0,064	limes	limes
0,04	—	—
0,025	—	—
0,016	—	—
0,01	—	—
	$D^{38°}_{24h} = 50$	$D^{38°}_{24h} = 50$

Versuch 27.

Schwarzer, männlicher Hund; überlebt die Pankreasexstirpation 8 Tage, (bis 5 % Zucker), wird am 9. Tag morgens tot aufgefunden. Leber wie in Versuch 26 behandelt, Preßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1 % Siärkelösung
0,16	+
0,1	limes
0,064	—
0,04	—
0,025	—
0,016	—
	$D^{38°}_{24h} = 31,25$

Bei diesem Falle ist zu beachten, daß die Leber zirka 12 Stunden nach dem Tode zur Verarbeitung kam; daher wohl der etwas niedrige Wert.

Versuch 28.

Box, lebt 40 Tage nach der Exstirpation des Pankreas, wechselnde Zuckermengen im Harn (3—6%); Tötung durch Entbluten. Leber in der gleichen Weise wie in Versuch 26 verarbeitet, Preßsaft sofort untersucht.

Menge des Preßsaftes	+ 5 ccm 1% Stärkelösung
0,1	+
0,08	+
0,06	limes
0,04	—
0,02	—
0,01	—
	$D_{24h}^{38^\circ} = 62{,}5$

Wenn man die hier nach Pankreasexstirpation beim Hunde ermittelten Werte für die Leberdiastase: $D_{24h}^{38^\circ} = 50$ resp. 31,25 und 62,5 dem bei normalen Hunden (Versuch 6—10) auffällig konstant gefundenen Wert von $D_{24h}^{38^\circ} = 125$ gegenüberstellt, ist eine Verminderung unverkennbar. Wie ist aber eine solche Herabsetzung des diastatischen Vermögens mit dem gleichzeitigen Glykogenschwund in der Leber zu vereinen? Unseres Erachtens trifft hier die Erklärung, die Bang selber gibt, völlig das Richtige: Beim Pankreasdiabetes ist wahrscheinlich die Glykogenbildung verändert und zwar entweder völlig aufgehoben oder stark vermindert. Man kann sich wohl vorstellen, daß diese mangelhafte Fähigkeit der Leber, den ihr zugeführten Zucker in Glykogen umzuwandeln, zur Glykosurie führt, selbst wenn das diastatische Vermögen, d. h. die Zuckerbildung aus Glykogen, danieder liegt. Insbesondere hat diese Annahme keine Schwierigkeiten, wenn man die jetzt weit verbreitete Anschauung von der Zuckerbildung aus Eiweiß teilt.

Vielleicht darf man auch die verminderte Glykogenbildung

beim Pankreasdiabetes direkt in Beziehung setzen zu der verminderten Diastase; da man neuerdings annimmt, daß Fermentwirkungen auch in umgekehrter Richtung verlaufen können (Reversion des enzymatischen Prozesses), wäre es möglich, daß der Leberdiastase neben ihrer abbauenden auch jene synthetische, glykogenbildende Funktion zukommt. (Bainbridge und Beddard, l. c. p. 89, Wohlgemuth[1])).

Die Leberdiastase beim Diabetes des Menschen ist bisher nur von Bainbridge und Beddard untersucht worden; wie schon zu Beginn dieses Abschnittes bemerkt wurde, enthalten sich diese Autoren, weil ihnen Beobachtungen an Nichtdiabetikern fehlen, eines Urteils über die gefundene Fermentmenge. Sie geben nur an (l. c. p. 95), daß sie das Enzym in 4 Fällen stets fanden (auch in jenen beiden Fällen, in denen sie die Blutdiastase vermißten).

2 Fälle von menschlichem Diabetes, die ich untersuchen konnte, wiesen die Werte $D_{24h}^{38^\circ} = 3{,}1$ und 5 auf:

Versuch 29.

Zuckerkranker, 53jähr. Mann. Polyurie. Abmagerung, Polyphagie, Polydipsie. Quantitative Angaben über den Zucker im Harn liegen nicht vor, dagegen wurde auf der chirurg. Abteilung, der der Patient angehörte, Acetessigsäure nachgewiesen. Im Anschluß an einen Karbunkel des Nackens trat Erisypel ein; Tod an Pneumonie. Die Leber wurde 24 Stunden nach dem Tode untersucht; die Leiche hatte während dieser Zeit im Kühlraum gelegen.

Menge des Preßsaftes	Preßsaft 24 Stund. p. m. untersucht
1,6	+
1,0	limes
0,64	—
0,4	—
0,25	—
0,16	—
	$D_{24h}^{38^\circ} = 3{,}1$

[1]) Wohlgemuth, J., Leber u. Galle, Oppenheimers Handbuch der Biochemie, 3, 162, 1908.

Versuch 30.

Menschlicher Diabetes.
Klinische Diagnose: Diabetes mellitus, Coma. Nähere Daten fehlen.
Sektion 18 Stunden post mortem. Leber normal.

Menge des Preßsaftes	Preßsaft 18 Stund. p. m. untersucht
1,0	+
0,64	limes
0,4	—
0,25	—
0,16	—
0,1	—
	$D_{24h}^{38°} = 5$

Diese Zahlen entsprechen annähernd den bei Nichtdiabetikern gefundenen Werten für die Diastase der Leber innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Tode (cf. Versuch 13—15). Daß sie normale Werte darstellen, kann man natürlich von ihnen ebensowenig behaupten, wie von jenen Befunden an nichtdiabetischen Menschen.

Zusammenfassung.

1. Die Glykogenspaltung in der Leber ist ein rein enzymatischer von der lebenden Zelle loszulösender Vorgang.

2. Das glykogenspaltende Enzym kommt der Leber als solcher zu und ist nicht als eingewanderte Blut- oder Lymphdiastase anzusehen.

3. Zum Studium diastatischer Prozesse ist die direkte Methode der quantitativen Fermentbestimmung von Wohlgemuth geeigneter als die indirekten Methoden der Berechnung des Glykogenumsatzes oder der Zuckerproduktion.

4. Die Menge der Diastase nimmt in der bei Zimmertemperatur unter Toluol aufbewahrten Leber während der Zeit nach dem Tode ab.

5. Die Abnahme tritt in der Regel innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Tode ein; ein nochmaliger Fermentschwund wurde nicht beobachtet.

6. Dieser Fermentverlust, der bis zu 60°/₀ betragen kann,

ist bei der Untersuchung der Leber menschlicher Leichen in Rechnung zu ziehen.

7. Sowohl bei Phlorizin- wie bei Phloretinglykosurie der Kaninchen tritt eine Vermehrung der Leberdiastase ein.

8. Die Adrenalinglykosurie beim Kaninchen kann mit gesteigerter diastatischer Kraft der Leber einhergehen.

9. Vagusdurchschneidung bewirkt beim Kaninchen starke Vermehrung der Leberdiastase.

10. Ebenso wirkt der Nackenschlag beim Kaninchen.

11. Beim Pankreasdiabetes des Hundes fand sich die Leberdiastase vermindert.

12. Beim Diabetes des Menschen scheint eine Verminderung zu fehlen, doch sind hier weitere Beobachtungen dringend nötig.

Literatur.

1. K. Agadschanianz, Über den Einfluß des Adrenalins auf das in Leber und Muskeln enthaltene Glykogen. Diese Zeitschr. 2, 148, 1906.

2. Arthus und Huber, Ferments solubles et ferments figurés. Arch. de physiol. 1892, 651.

3. Bainbridge and Beddard, The diastatic ferment in the tissnes in diabetes mellitus. Bio-Chemical Journ. 2, 89, 1906.

4. Bang, Ljungdahl und Bohm, Untersuchungen über den Glykogenumsatz in der Kaninchenleber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1. Mitteil. 9, 408, 1907; 2. Mitteil. 10, 1, 1907; 3. Mitteil. 10, 312. 1907.

5. Bang, Untersuchungen über das Verhalten der Leberdiastase bei Pankreasdiabetes. Ibid. 10, 320, 1907.

6. Cl. Bernard, Critique expérimentale sur la fonction glycogénique du foie. Compt. rend. de l'académ. des sciences 84, 1877.

7. Bial, Über das diastatische Ferment des Blut- und Lymphserums. Pflügers Arch. 52, 137.

8. Bial, Weitere Beobachtungen über das zuckerbildende Blutferment. Ibid. 53, 156.

9. Bial, Weiterer Beitrag zum Chemismus des diastatischen Blutfermentes. Ibid. 54, 72.

10. Bial, Über die Beziehungen des diastatischen Fermentes des Blutes und der Lymphe zur Zuckerbildung in der Leber. Ibid. 55, 434.

11. Bial, Ist die Zuckerbildung in der Leber Funktion diastatischer Enzyme oder vitaler Tätigkeit der Leberzellen? Du Bois' Arch. 1901, 247.

12. Bierry et Mme Gatin-Gruzewska. Compt. rend. de la Société de Biol. 58, 902, 1905.

13. L. Borchardt, Über das zuckerbildende Ferment der Leber. Pflügers Arch. 100, 259, 1903.

14. Cavazzani, Über die Veränderungen der Leberzellen während der Reizung des Plexus coeliacus. Pflügers Arch. 57, 81, 1894.

15. Cavazzani, Sul meccanismo della transformazione del glicogenio in glucosio nell' organismo. Annali di chimic. e farmacol. 1894 und 1897.

16. Cavazzani, Über den Mechanismus der Zuckerbildung in der Leber. Du Bois' Arch. 1899.

17. Dastre, Recherches sur les ferments hépatiques. Arch. de physiol. norm. et pathol. 21, 69, 1888.

18. Doyon, Compt. rend. de la Sociéte de Biol. 4, 66, 1904.

19. Drummond et Paton, Journ. of physiol. 31, 92, 1904.

20. Dubourg, Recherches sur l'amylase de l'urine. Thèse de Paris 1889.

21. Eckhard, Beiträge zur Anat. u. Physiol. 8, 77, 1879.

22. Eves, Some experiments on the liver ferments. Journ. of physiol. 5, 343.

23. Foster, Notes on amylolytic ferments. Ibid. 1, 107, 1867.

24. Glaessner und E. P. Pick, Über Phlorizindiabetes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 473, 1907.

25. K. Iwanoff, Über die Zuckerbildung in der isolierten Leber. Inaug.-Dissert., Petersburg 1905, und Centralbl. f. Physiol. 19, 891, 1905.

26. K. Kusmine, Untersuchungen über die Eigenschaften und die Entstehuug der Lymphe. 6. Mitteil.: Über den Einfluß der Lymphagoga (Lebergifte) auf die Leber. Zeitschr. f. Biol. 46, 554, 1905.

27. Lea, Journ. of Physiol. 11, 234, 1890.

28. Lépine, Über die Entstehung und Verbreitung des tierischen Zuckerfermentes. Ber. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wiss. 1870, 322.

29. F. Lussana, Sugli scambi respiratori del fegato e sul valore in rapporto all' amilolisi epatica. Arch. di fisiol. 2, 445, 1905.

30. v. Mering, Über experimentellen Diabetes. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23, 142, 1887.

31. Musculus und v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 403, 1878/79.

32. Neumeister, Lehrbuch der physiol. Chem. 2. Aufl. 1897, S. 132ff.

33. N. Paton, A. further study of hepatic glycogenesis. Journ. of physiol. 22, 122, 1897.

34. N. Paton, Some observations on the mode of conversion of glycogen to glycose in the liver. Ibid. 24, 36.

35. Pavy, On hepatic glycogenesis. Ibid. 22, 391, 1897.

36. Pavy und Siau, Über die Frage der Zuckerbildung in der erhitzten Leber. Ibid. 27, 457, 1902.

37. Fr. Pick, Über das glykogenspaltende Ferment der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 161, 1903.

38. E. Pflüger, Das Glykogen und seine Beziehungen zur Zuckerkrankheit. 2. Aufl. 1905.

39. Plósz und Tiegel, Über das saccharifizierende Ferment der Leber. Pflügers Arch. 7, 391.

40. Pugliese e Domenichini, Contributo allo studio dell' enzima saccharificante del fegato. Arch. farmacol. sperim. 12, Heft 4, 1907.

41. Röhmann, Zur Kenntnis des diastatischen Ferments der Lymphe. Pflügers Arch. 52, 158.

42. Röhmann und Bial, Über den Einfluß der Lymphagoga auf die diastatische Wirkung der Lymphe. Ibid. 55, 419.

43. E. Salkowski, Kleinere Mitteilungen. Pflügers Arch. 56, 351, 1894.

44. E. Salkowski, Über die Autodigestion der Organe. Festschrift für E. v. Leyden, 1891, 90.

45. W. Schlesinger, Über den Ursprung des diastatischen Ferments im Blute und über seine Beziehungen zum Diabetes melitus. Deutsche med. Wochenschr. 34, 593, 1908.

46. Seegen, Centralbl. f. med. Wissensch. 14, 850, 1876.

47. Tebb, Hydrolysis of glycogen. Journ. of Physiol. 22, 423, 1898.

48. Tiegel, Über eine Fermentwirkung des Blutes. Pflügers Arch. 6, 391, 1872.

49. v. Wittich, Über das Leberferment. Ibid. 7, 28, 1873.

50. J. Wohlgemuth, Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments. Diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

51. J. Wohlgemuth, Untersuchungen über die Diastasen. Ibid. 9, 10, 1908.

52. J. Wohlgemuth, Leber und Galle: Oppenheimers Handbuch der Biochemie, 3, 1. Hälfte, 1908.

Beitrag zur Physiologie der Galle.

Von

Casimir v. Rzentkowski.

(Aus der II. Abteilung des Wola-Krankenhauses zu Warschau.)

(Eingegangen am 4. Januar 1909.)

Die Patientin, an der die unten angeführten Untersuchungen ausgeführt worden sind, wurde Anfang März 1908 in meine Abteilung aufgenommen. Typische Schmerzanfälle in der Gegend des Chauffardschen hepato-sternalen Punktes, kurzdauernde und hoch fieberhafte Attacken und vorübergehender Icterus, sowie kurze Dauer der Erkrankung und Fehlen von Symptomen seitens der Gallenblase veranlaßten mich, die Diagnose Lithiasis ductus choledochi zu stellen. Verschiedene Mittel, welche therapeutisch ihre Anwendung fanden (KJ, Natrium salicylicum, Öleingießungen, Methylenblau, Narcotica usw.) hatten keinen günstigen Einfluß auf den Zustand der Kranken; der letztere wurde im Gegenteil allmählich immer schlimmer. Dies veranlaßte mich, der Patientin eine Operation vorzuschlagen, welche auch vom Herrn Kollegen Borsuk am 28. Mai 1908 ansgeführt wurde (Choledochotomie). Die Operation bestätigte die klinische Diagnose: es wurde nämlich ein walnußgroßer Stein im Ductus choledochus gefunden, entfernt und die Drainage des Ductus hepaticus vorgenommen. Das äußere Ende des Schlauches wurde mit einem Glasgefäß verbunden, in dem die Galle 24stündlich gesammelt wurde. Es sei hinzugefügt, daß 6 Wochen nach der Operation die Kranke als geheilt entlassen werden konnte.

Die Galle, die mir zu Gebote stand, stammte also aus dem Ductus hepaticus.

Tabelle I.

Tag	Datum	Tagesmenge in ccm	Spez. Gewicht	Δ	NaCl			N %	Trockensub.		Bemerkungen
					%	ges.	in % der Trock.-Substanz		%	ges.	
1	28. Mai	435	1003	—	0,7605	3,3082	—	—	—	—	2. Tag nach der Operation.
2	30. „	350	1005	—0,53°	0,7137	2,5693	48,7	0,084	1,465	5,274	Die Kranke trinkt nur Milch, Bouillon, Sodawasser.
3	31. „	400	1004	—0,52°	0,4329	1,7316	33,9	0,045	1,274	5,096	Der Harn enthält keine Gallenfarbstoffe. Obstipatio.
4	1. Juni	600	1006	—0,53°	0,7488	4,4928	51,2	0,073	1,460	8,76	Erbrechen; keine feste Nahrung. Injektio 0,01 Morphii muriat.
5	2. „	500	1005	—0,54°	0,6903	3,1515	48,3	0,078	1,304	6,52	Die Kranke ernährt sich genügend: es wurden 6,0 NaCl dargereicht; der Kot ist vollständig entfärbt.
6	3. „	510	1006	—0,53°	0,7371	3,7392	55,0	0,034	1,338	6,824	Es wurden 4,0 NaCl dargereicht.
7	4. „	680	1006	—0,55°	0,7254	4,9328	50,4	0,034	1,439	9,7852	Harn: Menge 1500 ccm; Spez. Gew. 1004; NaCl im Harn 2,457 g.
8	5. „	870	1005	—0,55°	0,7548	6,5668	56,3	0,045	1,341	11,6667	Harn: Menge 1200 ccm; Spez. Gew. 1005; NaCl im Harn 2,2464.
9	6. „	90!!	?	—0,53°	0,7254	—	—	0,028	1,273	—	Der Kot bleibt entfärbt, enthält 0,004 % NaCl; es wurden 4,0 KJ dargereicht.
10	7. „	500	1006	—0,55°	0,6986	3,4930	42,7	0,045	1,676	8,18	Die Galle enthält kein J; im Harn ist die Jodreaktion stark positiv.
11	8. „	790	1005	—0,57°	0,7020	5,5438	50,6	0,045	1,387	10,9573	Die Galle enthält kein J; im Harn ist die Jodreaktion stark positiv.
12	9. „	675	1005	—0,58°	0,7137	4,8175	49,6	0,045	1,446	9,7605	Die Galle enthält kein J; im Harn ist die Jodreaktion stark positiv, es wurden 8,0 Na salic. dargereicht.
13	10. „	?	?	—	0,6318	—	—	0,1512!	2,768	—	Die Galle enthält weder J, noch Na salic.; im Harn fällt die Reaktion auf Salicylsäure positiv aus.
14	15. Juli	322?	1005	—	0,6689	—	—	0,073!	1,982	—	Die Galle enthält weder J, noch Na salic.; im Harn fällt die Reaktion auf Salicylsäure positiv aus.

Die 24 stündige Menge. Wie aus der Tabelle ersichtlich, betrug die Tagesmenge der Galle im Laufe vom 29. April bis zum 9. Mai (mit Ausnahme des 6. Mai) im Mittel zirka 575 ccm mit Schwankungen zwischen 360 ccm und 870 ccm. Höchstwahrscheinlich war dies die gesamte Tagesmenge der Galle, welche in der Leber gebildet wurde, da der Kot der Patientin während der ganzen Untersuchungsdauer vollständig entfärbt war und der Verband nur sehr selten eine Spur von Verfärbung zeigte. Übrigens ist die angeführte Tagesmenge im Vergleich zu den Befunden anderer Autoren normal.

Das spezifische Gewicht der untersuchten Galle betrug im Mittel 1005 mit Schwankungen zwischen 1003 und 1006, was den Befunden anderer Autoren vollkommen entspricht.

Der Gefrierpunkt der Galle schwankte in ziemlich weiten Grenzen von —0,52° bis —0,58° und betrug im Mittel —0,543°, etwas weniger als der des Blutes, welcher wie bekannt normalerweise — 0,56° ist. Da der Kochsalzgehalt der untersuchten Galle im Mittel 0,6931 % betrug, so darf man wohl schließen, daß das Δ der Galle fast ausschließlich von dem Kochsalzgehalt derselben abhängig ist. Die Galle bildet also mit ihrer $\Delta = -0{,}543°$ keine Ausnahme von der, wie es scheint, allgemeinen Regel, daß die Drüsenzellen aus dem Blute Sekrete bilden, deren Δ niedriger als dasjenige des Blutes ist. Dasselbe trifft auch für den Magensaft[1]), dessen Δ zirka —0,50° beträgt, den Pankreassaft mit seinem $\Delta = -0{,}46°$ bis —0,49° usw. zu. Auch der Harn bildet in dieser Beziehung keine Ausnahme, denn die Erhöhung seiner molekularen Konzentration stellt eine sekundäre Erscheinung dar, welche in den Kanälchen stattfindet, während der Harn in den Knäueln ein Δ des Blutes oder vielleicht ein etwas kleineres besitzt.

Die Stickstoffverbindungen. Außer Mucin enthält die Galle, wie bekannt, folgende stickstoffhaltigen Bestandteile:

a) Gallenfarbstoffe und
b) Gallensäuren.

Das Mucin stellt ein eigentliches Sekret der Schleimhaut der Gallengänge dar, während die übrigen genannten Bestandteile, sowohl die Farbstoffe als auch die Säuren, Produkte des

[1]) Eigene Untersuchungen s. unten.

Eiweißstoffwechsels sind, so daß sie als spezifische Exkrete der Leberzellen betrachtet werden können, ebenso wie z. B. der Harnstoff als das Endprodukt des Eiweißstoffwechsels ein Nierenexkret bildet. Demnach stehen die Gallenfarbstoffe sowie die Gallensäuren ihrem Ursprunge nach ziemlich nahe, indem sie alle aus dem Eiweißmolekül stammen. Da ich über die Verteilung der stickstoffhaltigen Bestandteile der Galle keine Zahlen besitze (so für die Mucin-N-Fraktion, die N-Fraktion der Gallenfarbstoffe, diejenige der Gallensäuren usw.), was übrigens nicht in den Rahmen meiner Untersuchungen lag, so möchte ich den ganzen Stickstoffgehalt der Galle insgesamt als Kriterium der exkretorischen Leistungsfähigkeit der Galle bezüglich derjenigen Produkte des Eiweißstoffwechsels, welche durch die Leber eliminiert werden sollen, betrachten. Der Stickstoffgehalt der Galle ist also bei unserer Patientin von diesem Standpunkte aus analysiert.

Der Stickstoffgehalt der Galle betrug nämlich in den ersten Tagen nach der Operation, in denen die Patientin fast gar keine Nahrung zu sich nahm, im Mittel 0,07 % (für die Untersuchungstage Nr. 2, 3, 4 u. 5), was pro Tag etwa 0,4025 g N ausmacht. Diese Stickstoffmenge entspricht einer Eiweißversetzung von $0{,}4025 \times 6{,}25 = 2{,}5157$ g. Da die Patientin in dieser Periode etwa 9 bis 11 g N pro die mit dem Harn ausschied (10,5213 g), so betrug der gesamte Eiweißumsatz etwa 65,7 g. Aus diesen Zahlen läßt sich der Schluß ziehen, daß der Eiweißumsatz in den Leberzellen nur einen ganz geringen Anteil des gesamten Eiweißumsatzes ausmacht, und zwar etwa 2 %.

Dieses Verhältnis ist ziemlich konstant, denn wenn auch der prozentuale Stickstoffgehalt der Galle in den späteren Perioden, als die Kranke normal ernährt wurde, etwas niedriger war, so war dann die Gesamtmenge der Galle entsprechend größer. An einzelnen Tagen blieb jedoch der N-Gehalt der Galle verhältnismäßig klein, sogar geringer, als die oben angeführte Mittelzahl für die I. Periode (die Hungerperiode), und zwar:

am 5. Juni: Gallenmenge 870 ccm; Gesamt-N 0,3815, was einer Eiweißmenge von etwa 2,38 g entspricht,

am 6. Juni: Gallenmenge 790 ccm; Gesamt-N 0,3555, was einer Eiweißmenge von etwa 2,22 g entspricht.

Doch finden wir auch hier schließlich zirka 2,3 g Eiweiß pro die, fast ebensoviel wie früher (2,5 g). Dies beweist, daß die Leber in bezug auf die umgearbeitete Eiweißmenge sich auf einem gleichen Niveau erhält, unabhängig von der allgemeinen Ernährung des Körpers.

Wir gehen nun zur Besprechung der Trockensubstanz der Galle bei unserer Patientin über. Auch hier wird es vorteilhafter sein, die Trockensubstanz nach den Perioden zu betrachten: die I. Periode vom 29. Mai bis zum 2. Juni (einschließlich) entspricht der Zeit ungenügender Ernährung nach der Operation; die II. Periode vom 3. Juni bis zum 5. Juni entspricht der Zeit voller Ernährung und der Darreichung von NaCl, in der III. Periode wurden der Patientin verschiedene Medikamente dargereicht, wie KJ, salicylsaures Natron. Außerdem möchte ich in dieser Rubrik zwei Bestandteile unterscheiden, und zwar die Chloride und die Achloride.

Tabelle II.

Periode	Die tägliche Gallenmenge im Mittel cm	Trockensubstanz die mittleren tägl. Mengen			Bemerkungen
		Chloride g	Achloride g	ges.	
I	465	2,9638	3,446	6,41 (1,38 %)	Unterernährung
II	687	5,079	4,346	9,425 (1,37 %)	Norm. Ernährung + NaCl
III	655	3,464	4,1686	9,6326 (1,45 %)	Norm. Ernährung + KJ

Die dritte Zahlenreihe der vorstehenden Tabellen wird ihre Besprechung weiter unten finden, und zwar bei der Betrachtung der Kochsalzausscheidung durch die Galle. Hier wollen wir unsere Aufmerksamkeit der vierten und der fünften Zahlenreihe widmen, d. h. also den Achloriden sowie der gesamten Trockensubstanz der Galle.

Die Literaturangaben über den Trockenrückstand der Galle lauten sehr verschieden; dies zeigen z. B. die Zahlen von Westphalen 22,5 ‰, von Oscar Jacobsen 22,4 bis 22,8 ‰ und von Hammarsten über 30 ‰[1]); andere Autoren fanden dagegen viel kleinere Zahlen, und zwar 12—18 ‰. Meine eigenen Untersuchungen ergaben, wie aus der Tabelle ersicht-

[1]) cit. nach Neumeister, Lehrbuch d. physiol. Chem. 2. Aufl. S. 197.

lich 1,37 %, 1,38 %, 1,45 %, im Mittel 1,4 ‰. Am wenigsten schied meine Patientin in der I. Periode, d. h. in derjenigen mit ungenügender Ernährung aus, und zwar 6,41 g Trockensubstanz pro die. Bei voller Ernährung stieg die Menge der Trockensubstanz auf 9,42 u. 9,63 g pro die: dabei wächst aber auch die Menge der Galle, so daß der prozentuale Gehalt der letzteren an Trockensubstanz, die Konzentration der Galle also, unverändert blieb. Doch darf das scheinbar einfache Verhältnis zwischen der Menge der Trockensubstanz der Galle und dem Ernährungszustand nicht verallgemeinert werden. Denn zeigte die bei der Autopsie aus der Gallenblase entnommene Galle in einem Falle von Carcinom der Gallengänge (bedeutende Unterernährung, lange Zeit bestehende vollständige Anorexie, mehrfach entleerter Ascites) folgenden Gehalt an Trockensubstanz:

a) 5,2931 ccm Galle enthielt 0,1761 g Trockensubstanz = 3,32 %
b) 4,5534 ccm Galle enthielt 0,1471 g Trockensubstanz = 3,23 %
} in Mittel 32,7 ‰.

Zwar hatten wir es in diesem Falle mit Gallenstauung zu tun, was a priori eine Wasserresorption in der Gallenblase vermuten lassen könnte, doch widerspricht dem jedenfalls der Kochsalzgehalt dieser Galle, welcher 0,6903 % betrug, d. h. ebensoviel wie in dem hier besprechenden Falle. Es folgt daraus, daß der Hunger keinen bedeutenderen Einfluß auf den Trockenrückstand der Galle ausübt.

Die Achloride der Galle, d. h. also die Gesamtmenge der Gallenfarbstoffe und der Gallensäuren, des Mucins, des Cholesterins, der anderen Mineralsalze usw. steigt mit der Zunahme der Tagesmenge der Galle. Es fehlen mir Zahlen über die Verteilung der einzelnen Bestandteile der Trockensubstanz, weswegen ich darüber nichts Näheres aussagen kann.

Der Kochsalzgehalt der Galle, welcher das eigentliche Ziel meiner Untersuchungen darstellte, gibt auch zu mancherlei Bemerkungen Anlaß. Alle Autoren, welche sich mit der Analyse der Galle beschäftigten, geben zwar einstimmig an, daß der Gehalt der Galle an Kochsalz ziemlich groß ist, doch schenkt keiner dieser Erscheinung eine größere Aufmerksamkeit. Die

Ursache dessen liegt wohl daran, daß die Analysen der Galle mit wenigen Ausnahmen bis jetzt nicht von Klinikern, sondern von Chemikern ausgeführt wurden, und daß man erst in jüngster Zeit die wichtige Rolle des Kochsalzes für die Physiologie und besonders für die Pathologie kennen gelernt hat.

Bei der Besprechung des Kochsalzgehaltes der Galle bei unserer Patientin müssen wir drei Perioden unterscheiden. Die I. Periode (vom 29. Mai bis zum 2. Juni) entspricht der ungenügenden Ernährung nach der Operation. Die II. Periode (vom 3. Juni bis 6. Juni) entspricht der voller Ernährung und der Kochsalzdarreichung und die III. Periode der gewöhnlichen Ernährung ohne Kochsalzzusatz.

Periode I (Mittelzahlen):

24stündige Gallenmenge 459 ccm;
NaCl 0,6692 %;
24stündige Kochsalzmenge in der Galle 3,0507 g;
% Kochsalzgehalt der Trockensubstanz der Galle 45,5 %.

Zum Vergleich möchte ich hier Kochsalzuntersuchungen der Galle auch in manchen anderen Fällen anführen, und zwar: a) der oben erwähnte Fall von Carcinom der Gallengänge: Kochsalzgehalt der bei der Autopsie aus der Gallenblase gewonnenen Galle 0,6903 %; b) ein Fall von Pneumonia crouposa mit Icterus: Kochsalzgehalt der bei der Autopsie aus der Gallenblase gewonnenen Galle 0,4446 %. Obwohl diese letztere Zahl etwas kleiner ist als die beiden ersten, beweisen doch alle diese drei Fälle, daß der Kochsalzgehalt der Galle ganz bedeutend ist, und daß die tägliche Kochsalzmenge, welche mit der Galle ins Duodenum eingeführt wird, ziemlich hoch ist; sie kann sogar größer sein als die 24stündige Kochsalzmenge im Harn.

Wenn wir die Zahl 0,6692 % als Mittelzahl für den Kochsalzgehalt der Galle betrachten, so ergibt sich, daß der Kochsalzgehalt der Galle größer ist, als derjenige des Blutplasmas, welches nach meinen Untersuchungen im Mittel 0,5401 % NaCl (Mittelzahl aus 6 Bestimmungen) mit Schwankungen zwischen 0,5265 und 0,5616 % enthält[1]). Dies beweist also, daß die Ausscheidung des Kochsalzes mit der Galle keinen Filtrations-

[1]) Über den Kochsalzgehalt des Blutes beim gesunden und kranken Menschen. Przegl. Lek. 1903.

prozeß im Sinne der mechanischen Theorie der Osmose und der Ausgleichung der Molekularkonzentration auf den beiden Seiten einer tierischen Membran (Blut ⟶ Leberzelle ⟶ Galle) darstellt, sondern daß es ein eigentlicher Exkretionsprozeß, ein aktiver Prozeß biochemischer Natur ist.

Wollen wir nun sehen, woher stammt also der Kochsalzgehalt der Galle, wohin wird das Kochsalz eingeführt und was für Bedeutung kann dies für die allgemeinen Körperprozesse besitzen.

Es ist klar, daß das Kochsalz den Leberzellen mit dem Blute der V. Portae zugeführt wird, d. h. also aus allen beinahe Organen der Bauchhöhle, hauptsächlich aus dem Magendarmkanal. Im Kot werden gewöhnlich nur ganz geringe Mengen Kochsalz gefunden. So fand ich bei meiner Patientin in der II. Periode, also bei überreichlicher Kochsalzzufuhr, in 10,1197 g Kot (frisch gewogen) kaum 0,00468 g NaCl; das macht also 0,04 $^0/_0$, oder mit anderen Worten so gut wie eine Spur. Daraus folgt, daß das gesamte Kochsalz, welches aus dem Magen in den Darm hineinkommt, auch die Leber passieren muß.

Die Periode II belehrt, daß bei vergrößerter Kochsalzzufuhr auch der Kochsalzgehalt der Galle größer wird. Der prozentuale Kochsalzgehalt der Galle beträgt jetzt nämlich im Mittel 0,7374 $^0/_0$ (Per. I 0,6692 $^0/_0$); der Kochsalzgehalt der Trockensubstanz 53,9 $^0/_0$ (Per. I 45,5 $^0/_0$) und die 24 stündige Kochsalzmenge 5,0796 g (Per. I 3,0607 g).

In der Periode III — bei unveränderter Nahrungszufuhr, jedoch ohne Kochsalzzuschlag — sinkt der Kochsalzgehalt der Galle auf 0,7014 $^0/_0$ (im Mittel), was pro die 4,6187 g ausmacht und dem Kochsalzgehalt der Trockensubstanz von 47,6 $^0/_0$ entspricht. Die Tabelle III illustriert am besten die hier beschriebenen Unterschiede.

Tabelle III.

Periode	NaCl-$^0/_0$ in der Galle	Tägliche NaCl-Menge der Galle in g	NaCl-$^0/_0$ der Trockensubstanz der Galle	Bemerkungen
I	0,6692	3,0507	45,5	Hunger
II	0,7374	5,0796	53,9	Normale Ernährung + NaCl
III	0,7014	4,6187	47,6	Normale Ernährung

Aus der Tabelle ist folgendes ersichtlich: 1. der Kochsalzgehalt der Galle ist in der Hungerperiode geringer als bei voller Ernährung. 2. Die vergrößerte Kochsalzzufuhr steigert den prozentualen und den absoluten Kochsalzgehalt der Galle (Periode II). Danach ist der Kochsalzgehalt der Nahrung die Hauptquelle des Gallenkochsalzes. Da jedoch das mit dem Portablut in die Leber resorbierte Kochsalz sofort durch die Leberzellen secerniert und dem Duodenum wieder zugeführt wird, so haben wir hier mit einer unaufhörbaren Kochsalzzirkulation zu tun: das Blut der V. Portaa — die Leberzellen — das Duodenum und zurück. Vom teleologischen Standpunkte aus hat diese hier von mir zum erstenmal hervorgehobene Erscheinung die Bedeutung, überschüssige Kochsalzmengen von dem gesamten Blutkreislauf fernzuhalten. Höchst wahrscheinlich reguliert also dieser Prozeß den Kochsalzgehalt des Blutes; es werden dadurch die Körperzellen vom überschüssigen Kochsalz über das physiologische Optimum hinaus gestützt. Der überschüssige Zucker im Blute der V. Portae wird durch die Leberzellen in Form von Glykogen zurückgehalten, was das Blut des gesamten Kreislaufs von der Hyperglykämie, wie sie beim Diabetes mellitus vorkommt und welche hier den Organismus schädlich ist, schützt. Eine analoge Erscheinung besteht auch mit dem Kochsalz; doch handelt es sich hier um einen Krystalloid, welcher in größerer Menge in den Leberzellen nicht zurückgehalten werden kann. Der Überschuß wird mit der Galle ausgeschieden und gelangt ins Duodenum und nur ein Teil des Kochsalz kommt in den Blutkreislauf des Körpers.

Es fragt sich nun, ob diese großen Kochsalzmengen, welche mit der Galle in den Darm zurückkehren, keinen hemmenden Einfluß auf die Wirkung der Verdauungsfermente ausüben. Die Frage ist deshalb gerechtfertigt, da sowohl von anderen Autoren, wie von mir selbst[1]), eine schädliche Wirkung des Kochsalzes auf die proteolytische Verdauung im Magen festgestellt wurde. Weitere Untersuchungen müssen deshalb die Kontrolle übernehmen, ob und inwiefern das Kochsalz die Wirkung der Pankreasfermente hemmt. Es läßt sich auch schon jetzt sagen, daß die auf ein-

[1]) Studien über die proteolytische Wirkung des Magensaftes. Mém. d. Warsch. Med. Ges. 1903.

mal ins Duodenum mit der Galle zufließenden Kochsalzmengen gering sind, denn größere Gallenmengen und somit viel Kochsalz zeitweise in der Gallenblase zurückgehalten werden.

Wenn wir die Analysen der aus dem Ductus hepaticus stammenden Galle mit den Ergebnissen der Untersuchung der aus der Gallenblase entnommenen Galle vergleichen, so ergibt sich, daß das Kochsalz, im Gegensatz zu der Meinung anderer Autoren, in der Gallenblase nicht resorbiert zu werden scheint.

Die oben angeführten Untersuchungen ergaben also die bisher unbekannte sehr wichtige Rolle der Leber und der Galle in dem Kochsalzhaushalt des Körpers. Die Einzelheiten der hier festgestellten Erscheinung, der feinere Mechanismus derselben sowie ihre Veränderungen in pathologischen Zuständen, besonders auch bei Kochsalzretentionen, werden Gegenstand meiner weiteren Untersuchungen darstellen.

Gegen das Ende der III. Periode wurde durch den Schlauch nicht der gesamte 24 stündige Gallenmenge ausgeschieden: deswegen mußten die quantitativen Untersuchungen abgebrochen werden, und es wurde versucht, ob manche Arzneimittel (Jodkalium, Natrium salicylicum) bei oraler Darreichung in der Galle erscheinen und ob im Raum dieses Versuches irgend welcher Einfluß dieser Mittel auf die Ausscheidung und die Zusammensetzung der Galle festgestellt werden konnte.

Jodkalium. Es sei zunächst die Methodik, deren ich mich dabei bediente, kurz besprochen: es wurde also zu der Galle etwas rauchende Salpetersäure zugeseszt und diese Mischung mit Stärkepapier untersucht. Die Voruntersuchung ergab, daß man auf diese Weise das zugesetzte KJ sehr leicht entdecken kann, und zwar im Verhältnis: 2 Tropfen einer $3^{0}/_{0}$igen KJ-Lösung auf 5 ccm Galle; dies ist also 0,0036 KJ in 5 ccm Galle oder beinahe 0,06 $^{0}/_{0}$.

Am 6. Juni wurden der Kranken 4,0 KJ in Dosi refracta per os gegeben; an den darauffolgenden Tagen, und zwar vom 7. bis zum 15. Juni, zeigte der Harn einen sehr deutlichen, gegen Schluß einen etwas geringeren Jodgehalt.

In der Galle fiel die Jodreaktion negativ aus, es konnten auch keine Abweichungen in der Zusammensetzung der Galle festgestellt werden (Tab. I).

Natrium salicylicum. Hier mußte ich mich darauf beschränken, zu untersuchen, ob das salicylsaure Natron überhaupt mit der Galle ausgeschieden wird oder nicht, da schon am 10. Juni die Galle in ganz kleinen Mengen durch die Kanüle ausgeschieden wurde und die letztere am nächsten Tage entfernt werden mußte. Die Bestimmung geschah durch Zusatz von $FeCl_3$; um eine violette Verfärbung der Galle besser zu erkennen, mußte die letztere 20mal verdünnt werden; auf diese Weise konnte festgestellt werden, daß durch Zusatz von 3 Tropfen einer 1 $^0/_0$igen Natriumsalicylatlösung zu 2,5 ccm Galle (in 50 ccm Wasser) eine sehr deutliche violette Verfärbung mit einigen Tropfen $FeCl_3$-Lösung erhalten wird; dies entspricht einer 0,07 $^0/_0$igen Natriumsalicylatlösung in der Galle.

Am 9. Juni erhielt Patientin pro os 8,0 Natr. salic. in dosi refracta. An den folgenden Tagen konnte die Salicylsäure im Harn sehr deutlich nachgewiesen werden. In der Galle fiel jedoch die Reaktion niemals positiv aus. Es konnte nur ein etwas kleinerer prozentualer Kochsalzgehalt und ein etwas größerer N- und Trockenrückstandsgehalt der Galle festgestellt werden.

Es wurden also weder das Jodkalium, noch das salicylsaure Natron in unserem Falle mit der Galle ausgeschieden. Dieses Ergebnis ist so unerwartet, daß es noch nicht verallgemeinert werden kann. Jedenfalls sind zur Bestätigung dieser interessanten Resultate weitere Untersuchungen nötig, welche in entsprechenden Fällen von mir vorgenommen werden.

Über die zweite Gerinnung des Blutes von Limulus.

Von

Leo Loeb.

(Aus dem Marine Biological Laboratory, Woods Holl, Mass., und dem Laboratorium für experimentelle Pathologie der University of Pennsylvania, Philadelphia.)

(Eingegangen am 8. Januar 1909.)

In früheren Mitteilungen[1]) wurden die Bedingungen, unter denen das Hummerblut gerinnt, eingehend untersucht; auch wurden genauere Angaben über die sogenannte erste Gerinnung des Blutes einiger anderer Arthropoden gemacht. Es wurde hierbei gelegentlich erwähnt, daß auch beim Blut von Limulus nach Ablauf der Hauptgerinnung weitere Niederschläge in dem restierenden Plasma sich bilden können. Im folgenden sollen einige genauere Angaben über diese zweite Gerinnung gemacht werden.

1. Das zu diesen Versuchen benutzte Limulusplasma wurde auf zwei verschiedene Weisen dargestellt. a) Das Blut wurde vermittels eines Troikarts erhalten, der in das Herz durch das Rückengelenk eingestoßen wurde. Das Blut wurde in Schalen aufgefangen, die während des Ausfließens und nach beendigtem Ausfließen geschüttelt wurden. So wurde im Verlaufe weniger Minuten ein Gerinnsel von Fäden erhalten, von dem abfiltriert wurde. Das so erhaltene Plasma wurde auf Eis aufbewahrt. Dieses Plasma war also durch Defibrinieren (Entfernen des Zellfibrins) erhalten. b) Das Blut wurde in ähnlicher Weise durch einen Troikart erhalten und in mit Paraffin ausgekleideten Schalen aufgefangen. Diese Schalen standen in Eiswasser, und jede

[1]) Siehe Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 6, 8 und 9, sowie Virchows Archiv 173 und 185.

erhielt etwa 8 bis 10 ccm Blut. Die Blutzellen sanken unter diesen Umständen allmählich auf den Boden der Schale, wo sie einen dünnen Belag bildeten. Nach etwa $1^1/_2$ bis $1^3/_4$ Stunden wurde das klare überstehende Plasma mit einer Pipette abgehoben und auf Eis gestellt. In anderen Fällen wurde das Plasma vor dem Gebrauche eine halbe Stunde lang auf 52° erwärmt.

Das Plasma wurde nachher in der Weise benutzt, daß in den einzelnen Fällen je 2 oder 3 ccm in ein kleines Petrischälchen gebracht und sodann die verschiedenen Reagenzien zugesetzt wurden.

2. Einwirkung von Muskelextrakten auf Limulusplasma. Zu diesen Versuchen wurde Hummer- und Limulusmuskelextrakt benutzt. Die Muskeln von drei Hummern resp. einem großen Limulus wurden zerstoßen und mit 50 ccm destilliertem Wasser verrieben. Diese Mischung wurde über Nacht auf Eis stehen gelassen; vor dem Gebrauche wurden die Extrakte filtriert. Ein Teil dieser Filtrate wurde eine halbe Stunde auf 52° erwärmt. Wie ich früher zeigte, bewirkt Hummermuskelextrakt die Gerinnung des Hummerplasmas in ganz kurzer Zeit. 3 ccm Hummerplasma werden durch 0,1 ccm Hummermuskelextrakt gewöhnlich im Laufe einer oder mehrerer Minuten zur Gerinnung gebracht. Nach $^1/_2$ stündiger Erwärmung auf 45° hatte ein solcher Extrakt seine Gerinnung erregende Wirkung verloren. Limulusmuskelextrakt war auf Hummerplasma ohne Wirkung. Prüft man nun diese verschiedenen erwärmten und nicht erwärmten Extrakte gegenüber Limulusplasma, so war die Wirkung dieselbe, wenn erwärmte oder nicht erwärmte Extrakte des Hummer- oder Limulusmuskels benutzt wurden. Während Limulusplasma ohne Zusatz entweder ganz klar blieb oder gewöhnlich erst am nächsten Morgen ganz kleine Flöckchen zeigte, bewirkte Zusatz von 0,1 ccm Muskelextrakt oder von einem Muskelstück schon nach wenigen Stunden gewöhnlich Flockenbildung, die dann am nächsten Morgen noch stärker war. Hierbei machte es keinen Unterschied, ob die Extrakte oder Muskelstücke erhitzt oder frisch waren; beide wirkten in gleicher Weise. Einmal wirkten die einen kräftiger, das andere Mal die anderen. Meist wurden die Muskelstücke oder Extrakte eine halbe Stunde lang auf 52° erwärmt, in einem Falle auf 78°.

In einem Versuch war das Limulusplasma der spontanen Gerinnung nahe; hier bewirkte nun Zusatz der erhitzten oder nicht erhitzten Muskelextrakte eine deutliche Beschleunigung der gelatinösen Gerinnung des Plasmas.[1] Es besteht kein Unterschied in der Wirkung zwischen Hummer- und Limulusmuskelextrakt. Wir müssen aus diesen Befunden den Schluß ziehen, daß die Muskelextrakte und Muskelstücke Gerinnungserscheinungen im Limulusplasma auf eine nicht spezifische Weise hervorrufen, vielleicht durch Änderung der Reaktion des Plasmas. Es kann auch Flockenbildung durch Zusatz sehr geringer Mengen von Säuren oder Alkalien in dem Limulusplasma bewirkt werden. Daß der Mangel an spezifischer Wirkung von seiten der Muskelextrakte nicht auf $CaCl_2$-Mangel beruht, geht schon daraus hervor, daß ein Zusatz von noch 1 oder 2 Tropfen $\frac{m}{2}$ $CaCl_2$ zu 2 ccm Plasma + 0,1 ccm Extrakt eine Änderung nicht herbeiführt.

3. Prüft man die Wirkung von Zellfibrin auf Limulusplasma, so findet man häufig nichts weiter als nach einigen Stunden einen sehr geringfügigen gelatinösen Belag am Boden des Schälchens, und um das Fibrinstück kann sich ebenfalls ein kleiner gelatinöser Niederschlag gebildet haben. Erhitzt man solche Fibrinstücke auf 52° oder 54°, so kann die Wirkung sehr ähnlich sein. Ganz anders verhält es sich, falls man Hummerzellfibrin in ein Schälchen mit Hummerplasma legt; im Verlaufe von 1 oder 2 Stunden oder schon in kürzerer Zeit bewirkt solches Hummerzellfibrin sehr starke Koagulation des Hummerplasmas. Durch Erhitzen auf 50 bis 52° wird solches Hummerzellfibrin unwirksam. Diese Beobachtungen, die ich schon in früheren Jahren gemacht hatte, konnte ich in neuen Versuchen bestätigen. Auch Extrakt aus Limuluszellfibrin in destilliertem Wasser, der in ähnlicher Weise wie früher der Extrakt aus Hummerzellfibrin gewonnen wurde, braucht keine merkliche Gerinnung in Limulusplasma hervorzurufen, sondern kann ledig-

[1]) Ähnliche Befunde erhob ich schon früher beim Hummerplasma. Der spontanen Gerinnung nahes Plasma kann z. B. durch auf 50° erhitztes Hummerzellfibrin, das gegenüber beständigem Hummerplasma ganz unwirksam ist, in seiner Gerinnung beschleunigt werden. Es handelt sich hierbei wohl um die Wirkung nicht spezifischer Substanzen.

lich zu einer geringfügigen Flockenbildung führen, wie in ähnlicher Weise erhitzte, inaktivierte Muskelstücke wirken. Nun gelang es mir aber, in weiteren Versuchen einen Extrakt aus Limuluszellfibrin herzustellen, der sehr wirksam gegen Limulusplasma sein kann und von dem 0,2 bis 0,4 ccm 2 ccm Limulusplasma in wenigen Stunden zur festen Gerinnung bringen. Zu diesem Zwecke wird Limuluszellfibrin fein zerschnitten und mit Limulusserum und destilliertem Wasser versetzt 1 Tag lang auf Eis gehalten. Nicht in jedem Falle ist ein solcher Extrakt gleich wirksam. Wirksamer Extrakt bewirkt deutliche Gerinnung schon in Quantitäten von 0,2 ccm, von schwachem Extrakt braucht man, um eine deutliche Wirkung zu erzielen, 1 ccm. Die Variabilität in der Wirkung hängt nicht nur von dem Extrakte ab, sondern auch von dem Limulusplasma, das nicht in jedem Falle mit derselben Leichtigkeit zur Gerinnung gebracht werden kann. Nach $^1/_2$ stündigem Erwärmen auf 52° ist die Koagulabilität des Limulusplasmas nicht in erheblicher Weise verändert. Diese Variabilität in den verschiedenen Plasmen macht sich auch festen Stücken von Zellfibrin von Limulus gegenüber bemerkbar. Auch hier findet man Plasmen, denen gegenüber das Zellfibrin aktiver als gewöhnlich und wo die koagulierende Wirkung ganz deutlich ist.

Die Zellfibrinextrakte verhalten sich dem Erwärmen gegenüber nicht alle in gleicher Weise. Gewisse Zellfibrinextrakte von Limulus konnten $^1/_2$ Stunde lang auf 60° erwärmt werden, ohne ihre koagulierende Wirkung gegenüber Limulusplasma verloren zu haben oder ohne merklich geschwächt zu sein. Ebenso wurden solche Extrakte wiederholt $^1/_2$ Stunde auf 54° erwärmt, ohne merklich von ihrer Wirkung zu verlieren. Ganz anders verhält sich Hummerzellfibrinextrakt; dieser wird Hummerplasma gegenüber völlig unwirksam nach Erhitzen auf 52°. In anderen Fällen wurde durch Erwärmen auf 54° der Limulusextrakt deutlich abgeschwächt und in wieder anderen Fällen verlor er hierdurch seine Wirkung vollständig.

Worauf diese Verschiedenheiten in dem Verhalten beruhen, läßt sich vorläufig nicht sagen. In einem Versuch wurde beobachtet, daß am ersten Tag ein Limuluszellfibrinextrakt durch Erwärmen nicht abgeschwächt wurde, wohl aber am zweiten und dritten Tage, obwohl der nicht erwärmte Extrakt an Kraft

anscheinend nicht verloren hatte. Auch Zellfibrinstücke von Limulus zeigten eine gewisse Variabilität in ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber Erwärmen, die aber weniger ausgesprochen war, da schon die koagulierende Wirkung nicht erwärmter Zellfibrinstücke nicht so ausgesprochen wie die wirksamer Zellfibrinextrakte war.

Hummerzellfibrin oder Hummerzellfibrinextrakt war gewöhnlich bedeutend schwächer gegenüber Limulusplasma, und man konnte meist im Zweifel sein, ob es sich hierbei um eine wirkliche Gerinnung handelte, wie sie durch Limuluszellfibrinextrakt hervorgerufen wird, oder um Niederschläge, wie sie bei der Mischung von Limulusserum mit dem Serum anderer Arthropoden auftreten. Doch bewirkte Hummerzellfibrinextrakt zuweilen im Limulusplasma eine geringfügige Ausscheidung einer Gallerte; es ist daher wahrscheinlich, daß hier eine ähnliche Wirkung wie bei Limuluszellfibrinextrakt vorliegt. Durch Erwärmen verliert der Hummerzellfibrinextrakt diese Wirkung. Limuluszellfibrin oder Limuluszellfibrinextrakt bewirken auch in manchen Fällen Gerinnung im Hummerplasma. Aber diese ist gewöhnlich merklich schwächer, als die durch Hummerzellfibrin bewirkte. Dies tritt besonders zutage, wenn man die Wirkung der Zellfibrinstücke des Hummers und des Limulushummerplasmas gegenüber vergleicht; das Hummerzellfibrin wirkt dann stärker. Falls man die Zellfibrinextrakte benutzt, kommt ein anderer Faktor störend zur Geltung. Limuluszellfibrinextrakt ist nämlich offenbar viel widerstandsfähiger als Hummerzellfibrinextrakt, wie sich das schon aus seiner Widerstandsfähigkeit gegenüber Erwärmen ergibt; auch sonst läßt sich der Limuluszellfibrinextrakt viel leichter tagelang fast unverändert erhalten, während der Hummerzellfibrinextrakt sehr leicht seine Wirksamkeit verliert. Es scheint demnach, daß auch Hummer- und Limuluszellfibrinextrakte eine spezifische Adaption ihren eigenen Blutplasmen gegenüber in ähnlicher Weise besitzen, wie ich das früher im Falle der Muskelextrakte (und anderer Gewebsextrakte) bei Wirbeltieren und Wirbellosen nachgewiesen habe. Doch sollen hierüber bei Gelegenheit noch weitere Versuche angestellt werden, ehe das als sichergestellt betrachtet werden kann.

4. Wir können aus den angeführten Versuchen den Schluß

ziehen, daß in den Blutzellen des Limulus eine Substanz vorhanden ist, die eine koagulable Substanz im Limulusplasma und in geringerem Grade auch in dem Plasma gewisser anderer Arthropoden zur Gerinnung bringt. Hierbei zeigt sich, daß dieselbe Substanz in den Limulusblutzellen auf Limulusplasma und auf Hummerplasma wirkt, da Extrakte, die auf das eine Plasma stärker wirken, auch das andere Plasma schneller zur Gerinnung bringen. Ob die im Limulusplasma zur Gerinnung gebrachte Substanz dem im Wirbeltierblute und im Hummerplasma vorhandenem Fibrinogen ähnlich ist, kann vorläufig nicht angegeben werden. Es ist mir bisher nicht gelungen, durch Sättigung mit NaCl aus Limulusblut in ähnlicher Weise ein Fibrinogen herzustellen, wie das beim Hummerblut geschah. Vielleicht ist diese Substanz im Limulusplasma in viel geringerer Menge als im Hummerplasma vorhanden. Dem entspräche dann auch die Tatsache, daß Limulusmuskelextrakt wirkungslos ist, ähnlich wie ich das früher bei den Muskelextrakten solcher Arthropoden fand, die nur eine geringe oder anscheinend gar keine zweite Gerinnung zeigen, also gar kein oder nur wenig Fibrinogen besitzen. Auch bei Limulus ist die zweite Gerinnung ja viel schwächer als beim Hummer.

5. Der Nachweis spezifisch gerinnungsbeschleunigender Substanzen in den Limulusblutzellen legt die Erwägung nahe, ob es sich nicht auch bei der sog. ersten Gerinnung des Limulusblutes um eine solche Gerinnung einer fibrinogenähnlichen Substanz handelt. Schon früher habe ich Versuche und Beobachtungen angeführt, die gegen diese Annahme sprechen. Dagegen spricht auch folgende weitere Beobachtung: Falls man Wirbeltierblut defibriniert, besteht das erhaltene faserige Material aus dem ausgeschiedenen Fibrin, das in seinen Maschen Zellen einschließt. Anders in dem defibrinierten Blut des Limulus. Hier besteht das Gerinnsel lediglich aus Zellen, die zusammenkleben. Es ist ganz unmöglich, irgendwelche Fasern hier zu sehen, die extracellulär wären. Die zur Defibrinierung führende Bewegung des Blutes sollte wie beim Wirbeltierblute zu einer Retraktion des Fibrins führen, das als Faserwerk sichtbar würde. Nun kann man zuweilen beobachten, daß, falls man ein Stück Limuluszellfibrin, das durch Defibrinieren erhalten wurde, auf einen Objektträger legt und vor dem Aus-

trocknen schützt, nach einiger Zeit eine Anzahl der agglutinierten Blutzellen am Rande des Stückes sich ausbreiten; ein Vorgang, der doch kaum möglich wäre, falls die Zellen in extracelluläres Fibrin eingeschlossen wären. Jedenfalls muß eine Zellveränderung primär vorhanden sein. Erst diese führt zum Freiwerden der gerinnungserregenden Substanzen. Solche Zellveränderungen werden hauptsächlich durch mechanische Faktoren bedingt, wie sie beim Ausfließen des Blutes in Wirksamkeit treten. Nun haben wir aber früher gezeigt, daß diese primären Zellveränderungen schon allein zu einer Veränderung der Zelloberfläche führen, die als Folge dieser Veränderung klebrig wird. Eine Mitwirkung von extracellulärem Fibrin ist also zur Bildung des Zellfibrins nicht nötig. Jedenfalls könnte es sich nur um die Beteiligung außerordentlich geringer Mengen extracellulären Fibrins bei der durch Defibrinieren beschleunigten ersten Gerinnung des Limulusblutes handeln.[1])

Zusammenfassung.

In den Blutzellen von Limulus finden sich Substanzen, welche die Gerinnung des Limulusplasmas beschleunigen; dieselben unterscheiden sich durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Wärme von ähnlichen Substanzen in den Hummerblutzellen. Die in den Hummerblut- und in den Limulusblutzellen vorhandenen gerinnungsbeschleunigenden Substanzen sind wahrscheinlich an ihre Blutplasmen spezifisch adaptiert. In dem Muskel des Limulus sind gerinnungsbeschleunigende Substanzen gegenüber Limulusplasma nicht nachweisbar; dies entspricht der Tatsache, daß bei Limulus die zweite Gerinnung im Vergleich zu Hummerplasma und den Plasmen einiger anderer Arthropoden nur geringfügig ist. Bisher konnten Gewebskoaguline nur in den Muskeln solcher Arthropoden nachgewiesen werden, bei welchen die zweite Gerinnung sehr beträchtlich war.

[1]) Hierfür spricht auch die folgende Beobachtung: In 2 Fällen wurde das Blut desselben Limulus zum Teil nach der ersten, zum Teil nach der zweiten Methode erhalten und beide Plasma in ihrer Koagulierbarkeit verglichen. In einem Falle waren beide Plasmen ganz gleich; es war also beim Defibrinieren kein Verlust an Fibrinogen eingetreten. Weitere Versuche müssen zeigen, ob ein solches Verhalten die Regel ist.

Untersuchungen über die Milch kastrierter Kühe.

Von

Josef Rossmeisl.

(Aus dem chemischen Institut der k. u. k. Tierärztlichen Hochschule in Wien.)

(Eingegangen am 13. Januar 1909.)

Der Einfluß, den die Kastration der Milchkühe auf die Dauer der Laktationsperiode, auf die Quantität und die Qualität der Milch, sowie auf die Mastfähigkeit der operierten Tiere ausübt, ist seit langer Zeit Gegenstand der Untersuchungen von seiten tierärztlicher und landwirtschaftlicher Fachmänner gewesen. An Stimmen für und gegen die Kastration der Milchkühe fehlt es nicht.

Schon im 18. Jahrhundert kastrierten Tierärzte in Sachsen und Schweden mit gutem Erfolge; sie konstatierten eine Verlängerung der Laktationsperiode. Über Anregung des nordamerikanischen Landwirtes Thomas Winn im Jahre 1823 wurde die Idee neu aufgenommen. Namentlich haben sich in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts französische, deutsche und italienische Tierärzte mit der Frage eingehender beschäftigt, die Milch wurde der chemischen Analyse unterzogen, die Bestimmung des Körpergewichtes wurde systematisch vorgenommen, der Milchertrag und die Länge der Laktationsperiode genau verzeichnet.

So kommt Londet[1]) (1855) auf Grund der Untersuchung der Milch zweier Kühe vor und nach der Kastration zu dem Schlusse, daß die Milch nach der Kastration etwas reicher an Fett und Eiweiß geworden sei.

---

[1]) Zitiert nach B. Martiny, Die Milch, ihr Wesen und ihre Verwertung. 1871.

Marchand[1]) hat im Jahre 1857 Durchschnittsproben der Milch von Kühen derselben Gegend untersucht und gelangt zu dem Resultate, daß der Fettgehalt bedeutend gesteigert, der Zuckergehalt hingegen nicht erhöht sei.

Ähnliche Angaben macht M. Gouin[1]), welcher auf Grund von Analysen der Milch findet, daß der Eiweiß- und Zuckergehalt etwas und der Fettgehalt erheblich größer ist als vor der Kastration.

Nähere Angaben über die Zusammensetzung der Milch zu verschiedenen Zeiten nach der Kastration macht Dieulafait[2]) (1864), welcher die Milch dreier Kühe chemisch untersucht hat. Nachstehende Tabelle veranschaulicht seine Befunde:

Nr.	Zeit der Melkung	Wasser	Trocken-rückstand	Fett	Eiweiß-stoffe	Zucker	Asche
I.	vor der Kastration	87,58	12,42	3,13	4,36	4,20	0,71
	3 Monate später	86,26	13,74	4,14	3,77	5,03	0,81
II.	vor der Kastration	87,64	12,36	3,11	4,18	4,22	0,85
	6 Wochen später	86,58	13,42	4,03	4,45	4,14	0,80
III.	vor der Kastration	87,65	12,35	3,15	4,40	4,20	0,60
	4 Monate später	86,94	13,06	3,98	4,17	4,30	0,61

Nach diesen sechs Analysen ist der Fettgehalt nach der Kastration durchwegs größer, hingegen zeigt der Gehalt an Eiweiß, Zucker und Asche nur Schwankungen nach beiden Richtungen.

Ch. Haccius[3]) (1882) berichtet: In einem Falle blieb die Menge der abgesonderten Milch nach der Operation gleich groß wie vorher, aber das Sekret wurde gehaltreicher an Fett und Eiweiß.

Im Jahre 1891 hat Musso[4]) Untersuchungen über die Durchschnittsmilch von Kühen vor und nach der Kastration veröffentlicht und gefunden, daß nach der Kastration der

---

[1]) Zitiert nach B. Martiny.

[2]) Journ. d. agric. pract. 28 I, 520.

[3]) „Über Kastration der Milchkühe", Alpenwirtschaftliche Monatsblätter von Schatzmann 1882, 35.

[4]) Milchzeitung 1891, 20, 745.

Eiweiß- und Zuckergehalt etwas gesteigert sei, diese Steigerung sei aber beim Fettgehalte auffallend. Er fügt speziell hinzu: „Die Kühe geben nach der Kastration vom 2. bis 3. Tage an eher mehr als weniger Milch.“

Jakobs[1]) wählte Tiere aus, die im Stadium der besten Milchergiebigkeit standen und kastrierte sie, um das Brünstigwerden zu verhindern und die Laktationsperiode zu verlängern. Er kommt zum Schlusse: Durch die Kastration sinkt zwar das tägliche Milchquantum, das Gesamterträgnis aber steigt, weil die Laktationsperiode länger dauert. Der Fleischansatz steht im direkten Verhältnisse zum Sinken der Milchmenge.

J. Oceanu[2]) (1897) berichtet über die Milch einer von ihm kastrierten Büffelkuh und faßt die Erfolge der Ovariotomie in folgenden Punkten zusammen:

1. Veränderung des Gesamthabitus neben Verschwinden des Brünstigsein,
2. Verlängerung der Laktationsperiode,
3. Verbesserung der Qualität der Milch,
4. größere Mastfähigkeit.

Er gibt ebenfalls zu, daß die tägliche Milchmenge sinkt, konstatiert aber eine Verlängerung der Laktationszeit von 6 Monaten auf über 10 Monate. Durch chemische Analysen stellt er fest, daß der Gehalt an Zucker und Butterfett in der Milch nach der Kastration zugenommen hat. Der Fettgehalt der Milch der unkastrierten Büffelkuh ist 4,95 %, 6 Monate später nach der Kastration 6,01 % und nach 2 weiteren Monaten 8,61 %. Der Zuckergehalt bewegt sich in gleichen Zeiträumen in folgenden Verhältnissen: 3,98 : 5,02 : 5,03 %. Ferner wird als Folge der Kastration bessere Mastfähigkeit und die Erlangung eines größeren Schlachtgewichtes verzeichnet.

Im Jahre 1901 hat Falk[3]) seine Erfahrungen veröffentlicht. Er kastriert nur gesunde, gute Milchkühe, welche bei einer Tagesmelkung von 15 bis 12 l angelangt sind. Die Vorteile der Kastration gipfeln nach seinen Erfahrungen in folgenden Punkten:

---

1) Annales de med. vet. 58, 73.
2) Recueil de med. vet. 1897, 244.
3) Berl. tierärztliche Wochenschr. 1901, 233.

1. Stiersichtigkeit und Ovarialerkrankungen können durch die Operation behoben werden.

2. Nach Leblanc[1]) soll die Milch fett- und caseinreicher sein, namentlich soll der Fettgehalt um ein Drittel steigen.

3. Die Qualität des Fleisches kastrierter Kühe ist sehr ähnlich dem Fleische von Mastochsen. Das Schlachtgewicht fällt besser aus als bei unkastrierten Kühen.

4. Die Laktationsperiode wird bei gleich gut zusammengesetzter Milch bis auf 18 bis 24 Monate verlängert, wodurch ein größeres Milchquantum erzielt wird. Während sich das Jahresquantum einer mittleren unkastrierten Kuh auf 2000 bis 2600 l Milch beläuft, wächst das Quantum einer mittleren kastrierten Kuh auf 3500 l, einer besseren auf 5000 bis 6000 l an.

5. Die kastrierten Tiere mästen sich besser, wodurch Futterersparnis eintritt.

Wie aus den vorhergegangenen Zusammenstellungen der Literatur ersichtlich ist, wird wohl nur so viel über die Wirkung der Kastration als feststehend angenommen werden können: Die Milch wird im allgemeinen fettreicher, der tägliche Milchertrag sinkt wohl, die Laktationsperiode dauert aber länger, dadurch wird im allgemeinen der Gesamtertrag an Milch bedeutend erhöht; ist die Milch versiegt, dann mästen sich die Kühe besser, die Qualität des Fleisches wird eine bessere und das Schlachtgewicht steigt.

Durch das Entgegenkommen der Gutsverwaltung „Rehgras" in Weißenbach an der Triesting (Niederösterreich), der an dieser Stelle der Dank ausgesprochen sei, war es mir möglich die Milch fünf kastrierter Kühe durch längere Zeit systematisch zu untersuchen.

Die Ovariotomie war an diesen Kühen von Herrn Dr. Leopold Reisinger[2]) in Wien vorgenommen worden, und zwar nach einer von ihm geübten Modifikation der Methode nach Charlier.

Die Kühe befanden sich fortwährend im Stalle. Jede Kuh wurde täglich mit 8 bis 10 kg Heuhäcksel und 2 bis 3 kg

---

[1]) Bulletin de la société 1899, 110.

[2]) „Über Kastration von Kühen", Tierärztliches Centralbl. 1905, Nr. 6 u. 7.

eines „Kraftfutters“ gefüttert. Das „Kraftfutter“ bestand entweder aus Futtermehl, Gerstenschrot, Mais oder Melasse.

Die Kühe wurden dreimal im Tage gemolken. Aus der gemischten Mittagsmelkung wurde die Probe zur chemischen Untersuchung entnommen.

War der tägliche Milchertrag einer Kuh unter 6 l herabgesunken, dann wurde sie geschlachtet.

An der Milch einer sechsten Kuh, welche nicht kastriert worden war und welche sich in demselben Stalle unter gleichen Futter- und Lebensbedingungen wie die fünf kastrierten Kühe befand, wurden ebenfalls systematische Aufzeichnungen des Milchertrages und systematische chemische Untersuchungen vorgenommen. Leider konnten die erhaltenen Zahlen aus einem später anzuführenden Grunde zur Kontrolle nicht herangezogen werden.

Das spezifische Gewicht der Milch wurde mit der hydrostatischen Wage bei 15° C bestimmt, Trockensubstanz und Asche nach den allgemein üblichen Methoden, der Fettgehalt endlich in Gerbers Flachbutyrometer.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen seien im folgenden nur aus dem Grunde veröffentlicht, weil so weit ausgedehnte Beobachtungen der Laktation nach der Ovariotomie bisher in der Literatur nicht verzeichnet sind. Die vor der Operation von diesen Kühen gelieferte Milch stand mir leider nicht zur Verfügung.

Die Resultate der Beobachtungen und Untersuchungen folgen nunmehr in tabellarischer Form:

Die Kuh, die drei Monate vor der Kastration melkend war, gibt noch durch weitere 10 Monate Milch, also im ganzen 13 Monate.

Diese Kuh war schon 4 Monate vor der Kastration melkend und wurde 5 Monate nach dieser Operation der Schlachtung zugeführt; sie gab also durch 9 Monate Milch.

Zu diesem Falle sei noch bemerkt, daß bei der Kastration Pyometra konstatiert wurde. Die Operation wurde trotzdem zu Ende geführt. Ferner zeigte diese Kuh mehrmals nach der Kastration „Rindern“. Die Schlachtung ergab Lockerung der Ligatur an einem Ovarium und Cystenbildung an demselben.

Nr. 16.

Nationale des Tieres	Mürztaler Kuh, 8 Jahre alt, abgekalbt am 15. Juli 1905, kastriert am 11. November 1905.					
Tag der Analyse	spezifisches Gewicht bei 15° C	Wasser %	Trocken-substanz %	Milchfett %	Asche %	Eiweiß + Zucker %
11./XI. 1905	1,0350	86,50	13,50	3,80	0,81	8,89
27./XI. 1905	1,0353	85,13	14,83	4,85	0,78	9,20
17./I. 1906	1,0351	86,09	13,91	4,20	0,79	8,92
30./III. 1906	1,0334	85,71	14,29	4,90	0,75	8,64
13./VI. 1906	—	—	—	—	—	—
6./X. 1906	—	—	—	—	—	—
20./XII. 1906	—	—	—	—	—	—

der Probemelkung															
Tag	9	22	12	29	10	23	8	22	7	23	11	24	7	20	12
Monat	XI	XI	XII	XII	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI
Jahr	1905				1906										
Tagesmenge in Litern	8,25	8,50	6,25	7,25	7,75	7,50	6	6,75	7	6,25	7	6,25	—	—	—

der Probemelkung															
Tag	26	10	28	16	12	27	6	9	23	8	22	5	—	—	—
Monat	VI	VII	VII	VIII	IX	IX	X	X	X	XI	XI	XII	—	—	—
Jahr	1906														
Tagesmenge in Litern	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Zeit der Wägung	Vor der Kastration am 11./XI. 1905	Vor der Schlachtung am 7./V. 1906.
Gewicht in kg	490	493

Nr. 12.

Nationale des Tieres	Murbodener Kuh, 5 Jahre alt, abgekalbt am 22. August 1905, kastriert am 11. November 1905.					
Tag der Analyse	spezifisches Gewicht bei 15° C	Wasser %	Trockensubstanz %	Michfett %	Asche %	Eiweiß + Zucker } %
11./XI. 1905	1,0360	87,13	12,87	5,00	0,73	7,14
27./XI. 1905	1,0353	86,19	13,81	4,00	0,70	9,11
17./I. 1906	1,0345	87,07	12,93	3,90	0,69	8,34
30./III. 1906	1,0351	86,13	13,87	4,30	0,66	8,91
13./VI. 1906	1,0332	87,90	12,10	3,30	0,72	8,08
6./X. 1906	—	—	—	—	—	—
20./XII. 1906	—	—	—	—	—	—

der Probemelkung															
Tag	9	22	12	29	10	23	8	22	7	23	11	24	7	20	12
Monat	XI	XI	XII	XII	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI
Jahr	1905				1906										
Tagesmenge in Litern	8	7,25	7,50	7,50	7,50	8	7,75	8	8	7,50	7,50	7	6,50	6,75	7,50

der Probemelkung															
Tag	26	10	28	16	12	27	6	9	23	8	22	5	—	—	—
Monat	VI	VII	VII	VIII	IX	IX	X	X	X	XI	XI	XII	—	—	—
Jahr	1906														
Tagesmenge in Litern	7,50	6,25	5,50	6,50	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Zeit der Wägung	Vor der Kastration am 11./XI. 1905	Vor der Schlachtung am 24./XI. 1906
Gewicht in kg	435	442

Nr. 71.

Nationale des Tieres	Kuhländer Rasse, 9 Jahre alt, abgekalbt am 25. Mai 1905, kastriert am 11. November 1905.					
Tag der Analyse	spezifisches Gewicht bei 15° C	Wasser %	Trockensubstanz %	Milchfett %	Asche %	Eiweiß + Zucker } %
11./XI. 1905	1,0361	87,88	12,12	3,50	0,75	7,87
27./XI. 1905	1,0353	87,03	12,97	3,50	0,69	8,98
17./I. 1906	1,0344	86,35	12,65	3,50	0,68	8,47
30./III 1906	1,0352	86,78	13,22	3,50	0,66	9,06
13./VI. 1906	1,0334	87,10	12,90	3,10	0,68	9,12
6./X. 1906	1,0332	87,68	12,52	3,00	0,67	8,65
20./XII.1906	—	—	—	—	—	—

der Probemelkung																														
Tag	9	22	12	29	10	23	8	22	7	23	11	24	7	20	12	26	10	28	16	12	27	6	9	23	8	22	5	—	—	—
Monat	XI	XI	XII	XII	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI	VI	VII	VII	VIII	IX	IX	X	X	X	XI	XI	XII	—	—	—
Jahr	1905				1906																									
Tagesmenge in Litern	10,50	10	10,50	10	10,25	10,25	10,50	10,50	10	10	9,75	9,25	8,50	9,50	8,25	8	8,75	7,75	7,50	7,50	6,75	6,75	5,75	—	—	—	—	—	—	—

Zeit der Wägung	Vor der Kastration am 11./XI. 1905	Vor der Schlachtung am 15./X. 1906
Gewicht in kg	595	580

Nr. 100.

Nationale des Tieres	Kuhländer Rasse, 6 Jahre alt, abgekalbt am 17. Juni 1905, kastriert am 11. November 1905.					
Tag der Analyse	spezifisches Gewicht bei 15° C	Wasser %	Trockensubstanz %	Milchfett %	Asche %	Eiweiß + Zucker %
11./XI. 1905	1,0343	86,89	13,11	5,20	0,80	7,11
27./XI. 1905	1,0331	86,45	13,55	4,20	0,76	8,58
17./I. 1906	1,0313	85,40	14,60	5,70	0,72	8,18
30./III. 1906	1,0343	84,17	15,83	6,00	0,77	9,06
13./VI. 1906	1,0314	87,01	12,99	4,80	0,71	7,48
6 /X. 1906	1,0304	85,90	14,10	6,00	0,80	7,30
20./XII.1906	1,0360	83,96	16,04	6,80	0,87	8,37

der Probemelkung																														
Tag	9	22	12	29	10	23	8	22	7	23	11	24	7	20	12	26	10	28	16	12	27	6	9	23	8	22	5	—	—	—
Monat	XI	XI	XII	XII	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI	VI	VII	VII	VIII	IX	IX	X	X	X	XI	XI	XII	—	—	—
Jahr	1905				1906																									
Tagesmenge in Litern	9,75	7,75	9,25	10	11,50	10	10,50	9,50	10,25	9,75	9,75	8,75	9,25	8,50	8	8	7,50	7,50	8,25	7,50	6,50	7,50	6,50	7,50	7	7,50	7,50	—	—	—

Zeit der Wägung	Vor der Kastration am 11./XI. 1905	Vor der Schlachtung am 31./I. 1907
Gewicht in kg	515	505

Nr. 102.

Nationale des Tieres	Murbodner Kuh, 7 Jahre alt, abgekalbt am 7. August 1905, kastriert am 11. November 1905.					
Tag der Analyse	spezifisches Gewicht bei 15° C	Wasser %	Trocken-substanz %	Milchfett %	Asche %	Eiweiß + Zucker %
11./XI. 1905	1,0305	86,64	13,36	5,40	0,81	7,15
27./XI. 1905	1,0310	86,23	13,77	4,80	0,79	8,18
17./I. 1906	1,0311	86,33	13,67	4,90	0,79	7,98
30./III. 1906	1,0332	86,17	13,83	4,20	0,78	8,85
13./VI. 1906	—	—	—	—	—	—
6./X. 1906	—	—	—	—	—	—
20./XII. 1906	—	—	—	—	—	—

der Probemelkung																														
Tag	9	22	12	29	10	23	8	22	7	23	11	24	7	20	12	26	10	28	16	12	27	6	9	23	8	22	5	—	—	—
Monat	XI	XI	XII	XII	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI	VI	VII	VII	VIII	IX	IX	X	X	X	XI	XI	XII	—	—	—
Jahr	1905				1906																									
Tagesmenge in Litern	8,75	6,25	6,50	6,75	7,50	7,50	7,50	7,25	6,25	6,25	6,25	5,50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Zeit der Wägung	Vor der Kastration am 11./XI. 1905	Vor der Schlachtung am 7./V. 1906
Gewicht in kg	520	538

Nr. 125 (Kontrolltier).

Nationale des Tieres	Mürztaler Kuh, 11 Jahre alt, abgekalbt am 8. Mai 1905.					
Tag der Analyse	spezif. Gewicht bei 15° C	Wasser %	Trocken-substanz %	Milchfett %	Asche %	Eiweiß + Zucker } %
11./XI. 1905	1,0352	86,75	13,25	3,00	0,74	9,51
27./XI. 1905	1,0345	86,26	13,74	4,15	0,77	8,82
17./I. 1906	1,0332	87,05	12,95	3,90	0,73	8,32
30./III. 1906	1,0350	86,74	13,26	3,80	0,74	8,72
13./VI. 1906	1,0303	87,44	12,56	3,70	0,70	8,16
6./X. 1906	1,0312	86,38	13,62	4,00	0,81	8,81
20./XII. 1906	1,0332	87,14	12,86	3,30	0,78	8,78

der Probemelkung																														
Tag	9	22	12	29	10	23	8	22	7	23	11	24	7	20	12	26	10	28	16	12	27	6	9	23	8	22	5	12	9	8
Monat	XI	XI	XII	XII	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI	VI	VII	VII	VIII	IX	IX	X	X	X	XI	XI	XII	II	IV	V
Jahr	1905				1906																							1907		
Tagesmenge in Litern	7,75	8,25	9	9,25	9	9,25	10	9,50	9,75	8,75	9	8,50	7	9,25	8	7,25	8,50	8,50	8	6,75	7,25	7	6,50	6,50	6,75	8	7,75	6,75	6,25	4,75

Zeit der Wägung	Zur Zeit der ersten Wägung am 11./XI. 1905	Vor der Schlachtung am 22./V. 1907
Gewicht in kg	515	480

Das Tier gab vor der Kastration 6 Monate lang Milch und nach der Kastration durch weitere 11 Monate; im ganzen also durch 17 Monate.

Die Kuh war 5 Monate vor der Kastration gemolken worden und gab bis zur Schlachtung noch ein Jahr Milch; im ganzen also 17 Monate.

Nach der Kastration zeigte diese Kuh durch längere Zeit schlechte Freßlust und wurde am 7./V. 1906 geschlachtet. Sie war 3 Monate vor der Kastration gemolken worden und gab noch durch 6 weitere Monate Milch, im ganzen also durch 9 Monate.

Die Laktationsperiode dauerte bei diesem Kontrolltiere 24 Monate.

Übersieht man nun die angeführten Daten und versucht sich daraus ein Bild über die Veränderungen zu bilden, die durch die Kastration hervorgerufen worden sind, so ist es nicht leicht, sofort zu einem einheitlichen, allen Fällen gerecht werdendem Urteile zu kommen.

Bedingen ja doch vor allem anderen Unterschiede in der Rasse und im Alter auch beträchtliche Unterschiede in der Dauer der Laktationsperiode, in der Größe des Milchertrages und in der Zusammensetzung der Milch; man muß sogar mit erheblichen individuellen Unterschieden rechnen, für die man keinerlei Ursachen zu finden vermag.

Im allgemeinen soll bei diesen Betrachtungen von folgendem Gedanken ausgegangen werden. Es ist eine allgemein bekannte Tatsache, daß Tiere, welche ihrer Geschlechtsdrüsen beraubt worden sind, wenn sie gesund sind, zur Mast neigen; es sei nur kurz an die Mast der Ochsen, der kastrierten Eber, der Kapaune und Poularde erinnert. Auch am Menschen können ähnliche Beobachtungen gemacht werden. Fast sprichwörtlich ist ja die Fettleibigkeit der Eunuchen, und Frauen, an welchen die Ovariotomie vorgenommen wurde, blühen, wenn sie von ihrer Krankheit durch die Operation geheilt worden sind, auffallend rasch auf.

So wäre auch an der Kuh nach der Kastration eine Erscheinung der Mast von vornherein zu erwarten. In dieser Beziehung muß aber die von der Kuh gelieferte Milch als etwas zur Kuh Gehöriges betrachtet werden. Es dürfen daher die Erscheinungen der Mast nicht nur am Körper, d. i. im Fleisch-

und Fettansatze gesucht werden, sondern sie können sich auch in der Milch vorfinden und können sich dort äußern in der Verlängerung der Laktationsperiode, Erhöhung des Milchertrages, Erhöhung des Gehaltes an einzelnen Bestandteilen der Milch.

Nun müßte es wohl als reiner Zufall bezeichnet werden, wenn sich die Erscheinungen der Mast bei allen Versuchstieren in allen den aufgezählten Punkten zeigen würden, ja es dürfte auch kaum zu erwarten sein, daß sich bei allen Tieren, die ja verschieden alt sind und verschiedener Rasse angehören, in denselben Punkten Masterscheinungen aufweisen werden. Es werden vielmehr bei den verschiedenen Tieren die Erscheinungen der Mast auch in verschiedenen Punkten zu suchen sein. Aus diesem Grunde muß auch jeder Fall in jedem Punkte einzeln betrachtet werden.

Was zunächst nun die durch die Kastration bewirkte Verlängerung der Laktationsperiode anbelangt, so kann natürlich hier nur die Zeit in Betracht kommen, während welcher die Tagesmenge der Milch rationell anzusprechen ist. Im allgemeinen nimmt man die Laktationsperiode einer unkastrierten Milchkuh mit durchschnittlich 300 Melktagen an, doch unterliegt diese Zeit hauptsächlich den Einflüssen der Rasse, des Individuums und des Alters. So versiegen z. B. Kuhländer Milchtiere, wenn wir den Angaben Werners[1]) folgen, mit 200 bis 250 Melktagen. Auch die Individualität spielt eine große Rolle, so ist bekannt, daß Kühe, die nach dem letzten Kalbe nicht mehr gravid geworden sind und auch nicht kastriert waren, 3 bis 4, ja sogar bis 5 Jahre Milch nach dem letzten Kalbe gaben. Unser Kontrolltier Nr. 125, das nicht kastriert wurde, gibt durch 24 Monate Milch in einer Durchschnittsleistung von 8 Litern pro Tag. Es ist also als vereinzelter Ausnahmsfall zu betrachten, der zum Vergleiche nicht herangezogen werden kann. Überhaupt sind die Versuchsergebnisse bei dieser Kuh so eigentümliche, daß der Gedanke nicht von der Hand zu weisen ist, ob nicht diese Kuh steril geworden ist und daher einer kastrierten gleichzustellen wäre.

Auch das Alter macht seinen Einfluß geltend, indem nach

---

[1]) Werner, Die Rinderzucht.

den Angaben von Fleischmann[1]) die größte Milchergiebigkeit mit dem 8. Jahre erreicht ist.

Betrachtet man nun die Resultate der 5 kastrierten Kühe nach den vorliegenden Gesichtspunkten bis zur Zeit ihrer Schlachtung, so stellen sich die Verhältnisse folgendermaßen:

Nr. 12: Murbodner, 6 Jahre alt, gibt 13 Monate Milch, durchschnittlich 7 l pro Tag, beiläufige Jahresmenge 2600 kg.

Nr. 16: Mürztaler, 9 Jahre alt, gibt 9 Monate Milch, durchschnittlich 7 l pro Tag, beiläufige Jahresmenge 1940 kg[2]).

Nr. 71: Kuhländer, 10 Jahre alt, gibt 17 Monate Milch, durchschnittlich 9 l pro Tag, beiläufige Jahresmenge 3300 kg.

Nr. 100: Kuhländer, 7 Jahre alt, gibt 17 Monate Milch, durchschnittlich 8,5 l pro Tag, beiläufige Jahresmenge 3150 kg.

Nr. 102: Murbodner, 8 Jahre alt, gibt 9 Monate Milch, durchschnittlich 6,8 l pro Tag, beiläufige Jahresmenge 1870 kg[2]).

Folgt man den Angaben der landwirtschaftlichen Kreise über Milchleistung, so kann man mit den durch die Kastration erzielten Erfolgen in dieser Hinsicht nicht unzufrieden sein. So gibt Werner den Jahresdurchschnittsertrag bei der Murbodner Rasse auf 1500 bis 1800 l an und die Versuchstiere dieser Rasse Nr. 12 und Nr. 102 liefern nach den Aufzeichnungen 2600 kg (in 12 Monaten) und 1870 kg (in 9 Monaten). Nach eben dieser Quelle, bei der die Leistungsfähigkeit der Kuhländer bei einer Laktationszeit von 200 bis 250 Tagen auf ungefähr 2500 kg Milch, bei besserer Haltung in der Umgebung von Wien auf höchstens 3000 kg angegeben werden, würden die günstigen Einflüsse der Kastration für die Versuchstiere dieser Rasse Nr. 71 und Nr. 100 augenscheinlich sein, da Nr. 71 (10 Jahre alt) bei einer Laktationszeit von 17 Monaten (517 Melktagen) ein Mindest-Jahresquantum von 3300 kg und Nr. 100 bei gleichlanger Laktationszeit in demselben Zeitraume eine Jahresleistung von 3150 kg Milch aufwies. Was die Versuchstiere der Mürztaler Rasse anbelangt, so gibt Werner deren durchschnittliche Jahresmenge auf 1500 bis 1800 kg Milch an und bewertet die ganz guten Tiere auf 3000 kg Milch pro Jahr. Nr. 16 dieser Rasse (9 Jahre alt) gibt bis zur Schlachtung 9 Monate Milch in einer

[1]) Lehrbuch der Milchwirtschaft.

[2]) Nr. 16 und Nr. 102 in 9 Monaten.

Menge von mindestens 1950 kg bei einer durchschnittlichen Tagesleistung von 7 Litern. Es übertrifft also auch dieses Versuchstier, trotz der kurzen Versuchszeit, die mittlere Durchschnittsleistung. Dabei ist aber auch noch die Krankheit der Kuh in in Betracht zu ziehen.

Was nun die angeblich durch die Kastration erlangte Mastleistung anbetrifft, so dürfte man beim Vergleiche der nachstehenden Angaben über Lebendgewicht zur Zeit der Kastration und Lebendgewicht zur Zeit der Schlachtung wohl zu einem nur wenig befriedigenden Resultate gelangen; doch sei andrerseits hervorgehoben, daß auch keine erheblichen Gewichtsabnahmen stattgefunden haben.

Nr.	Rasse	Lebendgewicht zur Zeit der Kastration	Lebendgewicht zur Zeit der Schlachtung	Dauernde Aufstellung nach Monaten
12	Murbodner	435 kg	442 kg	10
16	Mürztaler	490 kg	493 kg	5
71	Kuhländer	595 kg	580 kg	11
100	Kuhländer	515 kg	505 kg	13
102	Murbodner	520 kg	538 kg	6

Die Zusammensetzung der Milch der Versuchstiere kann in nachfolgender Tabelle, in welche die Durchschnittszahlen eingesetzt sind, ersehen werden.

Nr.	Trockensubstanz im Mittel	Fettgehalt im Mittel
12	13,11	4,12
16	14,13	4,44
71	12,73	3,31
100	14,31	5,53
102	13,65	4,82

Diese Zahlen für Trockensubstanz und Fett ähneln sehr den genauen Aufzeichnungen von E. Ramm[1]) über die Melkresultate und Analysen der Milch der Jersey- und Guernsey-Kühe in der akademischen Gutswirtschaft zu Bonn-Poppelsdorf. Es sind dies Zahlen, wie sie nur bei diesen besten Milchrassen gefunden worden sind. Namentlich fällt der Fettgehalt ganz

[1]) E. Ramm, Milchzeitung 1897, 26, 487—489.

besonders auf, wenn man bedenkt, daß nach Angaben von Fleischmann[1]) der mittlere Fettgehalt der Kuhmilch mit 3,25 % im allgemeinen angenommen wird und nach dieser Quelle ein Fettgehalt von 4,5 % als obere Grenze gilt. Nachdem in den vorliegenden Versuchen eine größere Reihe von Beobachtungen vorliegt und der Fettgehalt konstant die obere Grenze erreicht oder in vielen Fällen sie sogar überschreitet, so kann man Zufälligkeiten wohl ausschließen und den hohen Fettgehalt nur der günstigen Einwirkung der Kastration nach dieser Richtung hin zuschreiben.

Allerdings sind die hier in Betracht kommenden Rassen solche, deren Milch fettreicher ist, als der Fleischmannschen Mittelzahl entspricht. So gibt Siedel[2]) den Fettgehalt der Milch der Murbodner Rasse im Mittel zu 4,05 % an, den der Mürztaler Rasse im Mittel zu 3,58 % an, König[3]) den der Mürztaler Rasse mit 4,16 % und Werner[4]) den der Kuhländer Rasse mit 3,5 bis 4,4 %. Mit Ausnahme des Versuchstieres Nr. 71 werden auch diese Mittelwerte von den bei den Versuchstieren gefundenen Zahlen übertroffen, oft sogar in beträchtlichem Maße.

Nr.	Eiweiß + Milchzucker in %	Milchasche in %
12	8,31	0,70
16	8,91	0,78
71	8,69	0,69
100	8,01	0,77
102	8,04	0,79

Fleischmann[5]) gibt die Menge an Eiweiß und Zucker im Mittel mit 8,10 % an, König[6]) für die Mürztaler Rasse im Mittel mit 8,07 %, für die Kuhländer Rasse mit 7,94 %, für die Jersey-Rasse beispielsweise mit 9,07 %. Die Menge an Zucker

[1]) W. Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft.

[2]) Siedel, Wiener landwirtschaftl. Zeitg. 1891, 20, 323.

[3]) König, Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, Berlin 1903, S. 162.

[4]) Werner, Die Rinderzucht, S. 271 und 382.

[5]) Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft.

[6]) König, Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel S. 136, 162.

und Eiweiß der Milch unserer Versuchstiere bewegt sich ebenfalls in diesen Werten und zeigt eher eine Tendenz nach oben.

Auch die Milchasche hält sich in mittleren Grenzen, was wohl vermutet werden konnte, da bekannterweise der Aschengehalt in fast allen tierischen Flüssigkeiten eine ziemliche Übereinstimmung aufweist.

Um nun ein Gesamturteil über die Erfolge der Kastration bei den Versuchstieren zu gewinnen, seien die in den vorhergehenden Zeilen gefällten Einzelurteile in einer Tabelle zusammengefaßt:

Nr.	Laktationsperiode	Milchertrag	Gehalt der Milch an		Körpergewicht	Anmerkung
			Fett	Zucker + Eiweiß		
12	verlängert	erhöht	normal	wenig über dem Mittel	7 kg zugenommen	
16	etwas kürzer	nur wenig erhöht	erhöht		3 kg zugenommen	Pyometra, Cystenbildung
71	beträchtlich verlängert	erhöht	wenig unter dem Mittel		15 kg abgenommen	
100	beträchtlich verlängert	erhöht	beträchtlich erhöht		10 kg abgenommen	
102	etwas kürzer	kaum erhöht	erhöht		18 kg zugenommen	schlechte Freßlust

In dieser Tabelle läßt sich die Bestätigung des Gedankens, welcher am Eingange dieser Beobachtungen aufgestellt worden ist, nicht verkennen; die Masterscheinungen äußern sich tatsächlich bei verschiedenen Individuen in verschiedener Beziehung, ja in einzelnen Punkten ist sogar ein Rückgang, sozusagen eine Abmagerung, wenn auch in bescheidenstem Maße, unverkennbar. Nichtsdestoweniger überwiegen in allen Fällen die „Masterscheinungen“; dies würde jedenfalls sehr zugunsten der Kastration sprechen. Ohne mir auf Grund dieser Versuche ein endgültiges Urteil über den Wert dieses Eingriffes anmaßen zu wollen, sei nur soviel bemerkt, daß diese Ergebnisse jedenfalls sehr zur Aufstellung großer Versuchsreihen unter Berücksichtigung aller erwähnter Umstände ermuntern.

Betrachtet man insbesondere die Resultate der Versuche, welche an den beiden Kühen Nr. 71 und Nr. 100 gewonnen wurden, so liegt der Gedanke nahe, daß die Rasse eine wichtige Rolle spielt. Es ist daher die Forderung Reisingers[1]) wohl anzuerkennen, daß bei künftigen Versuchen der Hauptwert auf die glückliche Auswahl der zu kastrierenden Kühe in Berücksichtigung der Rasse, des Alters und der Individualität gelegt werden muß, so daß neben der Behebung gewisser Krankheiten (Ovarialerkrankungen usw.) oder Beseitigung mancher Unbequemlichkeiten (z. B. Stiersucht, Belästigung der anderen Tiere usw.) durch die Operation noch zugleich ein ökonomischer Vorteil der Kastration erreicht werden könnte.

---

[1]) Reisinger, Tierärztl. Centralbl. 1906, Nr. 6 u. 7.

Über Parthenogenese.

Von

J. Traube.

(Aus dem physikalisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule zu Charlottenburg.)

(Eingegangen am 19. Januar 1909.)

In verschiedenen Abhandlungen[1]) habe ich die Ansicht verfochten, daß die osmotische Kraft in erster Linie bedingt ist durch die Oberflächenspannungsdifferenz (bzw. Binnendrucksdifferenz) die beiden durch die Membran getrennten Flüssigkeiten. Eine wässerige Lösung von geringerer Oberflächenspannung (gegen Luft) diosmiert in Richtung derjenigen von größerer Oberflächenspannung. Je mehr ein Stoff die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt, um so größer ist nach Gibbs Prinzip sein Bestreben, in die Oberfläche zu wandern und so die Bedingungen zu schaffen, daß eine zweite Phase (beispielsweise ein Lipoid) denselben adsorbieren oder lösen kann. So kann man sich nicht wundern, wenn vielfach, aber nicht immer die Lipoidlöslichkeit und der Teilungskoeffizient der Erniedrigung der Oberflächenspannung parallel geht.

Wenden wir diese Betrachtungen an auf die schönen Untersuchungen von J. Löb über die Parthenogenese insbesondere durch Fettsäuren und ähnliche Stoffe, so ergibt sich folgendes:

Die Fettsäure wird von der Oberfläche des Eies aufgenommen, und zwar bei Gegenwart von Lipoiden um so leichter, je mehr die Länge die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt. Wird nun das so vorbehandelte Ei wieder in See-

[1]) J. Traube, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 105, 541 u. 559, 1904 und 123, 419, 1908. Verhdl. d. Deutsch. physikal. Ges. 10, 880, 1908 und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 86, 1909.

wasser gesetzt, oder in eine entsprechende Chlornatriumlösung, so ist eine Druckdifferenz vorhanden, welche, vom Innern des Eies nach außen wirkend, eine Sekretion veranlaßt, die zur Membranbildung führt. Jene Druckdifferenz ist um so größer, je mehr der betreffende Stoff die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt.

Hiernach wirkt ein in Wasser gelöster Stoff, beispeilsweise eine Säure in parthenogenetischem Sinne um so günstiger, je mehr der Stoff die Oberflächenspannung vermindert.

Auf diesen innigen Zusammenhang von Parthenogenese und Oberflächenspannung habe ich in meiner Abhandlung (Pflügers Arch. 123, 426 und 427) bereits hingewiesen. Da indessen Herr Löb in seiner soeben in dieser Zeitschr. 15, 254 erschienenen Arbeit über: Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit der Säuren meine Ausführungen mit keinem Worte erwähnt hat, so möchte ich auf Grund der neueren schönen Versuchsergebnisse von Löb deren Berechtigung und vor allem deren Vorzüge vor den Annahmen von Löb dartun.

Nach Löb nimmt die parthenogenetische Wirksamkeit der Fettsäuren sehr erheblich zu mit wachsendem Molekulargewicht.

Folgendes sind nach meinen früheren Untersuchungen[1]) bei 15° C die Capillaritätskonstanten $\gamma = \frac{rhs}{s}$ in mg mm für $^n/_4$ wäßrige Fettsäurelösungen

	γ_{15}
Wasser	7,30
$^n/_4$ Ameisensäure	7,14
„ Essigsäure	6,81
„ Propionsäure	6,13
„ Buttersäure	4,89
„ Isobuttersäure	4,82
„ Isovaleriansäure	3,56

Die Oxyfettsäuren haben nach J. Löb eine wesentlich geringere Wirkung auf die Membranbildung (Oxybuttersäuren usw.).

Folgende Zusammenstellung zeigt die diesem Verhalten entsprechende erhebliche Zunahme der Oberflächenspannung beim Eintritt der Hydroxylgruppe.

[1]) Liebigs Ann. 265, 30.

		γ_{15}
n/4	Essigsäure	6,81
„	Glykolsäure	7,24
„	Isobuttersäure	4,82
„	Oxyisobuttersäure	6,45

Noch wesentlich geringer (im Vergleich mit Oxybuttersäure und Oxypropionsäure) ist die parthenogenetische Wirksamkeit der zwei- und mehrbasischen Säuren. Diesem Verhalten entspricht ihr capillares Verhalten

		γ_{15}
n/4	Oxalsäure	7,27
„	Bernsteinsäure	7,08
„	Weinsäure	7,29
„	Citronensäure	7,26

Die geringste Wirksamkeit nach Löb entfalten die starken Mineralsäuren (HCl, HNO_3 und H_2SO_4), und von diesen kommt die schwächste Wirksamkeit, der Schwefelsäure hinzu.

Die Konstanten der Oberflächenspannungen[1]) sind:

		γ_{15}
n/4	Chlorwasserstoffsäure . . .	7,28
„	Salpetersäure	7,27
„	Schwefelsäure	7,30

Von weiteren Stoffen, welche durch Zusatz zum Seewasser leicht eine Membranbildung verursachen, nennt Löb: Chloroform, Amylien, Benzol, Toluol usw., Benzoesäure, Saponin, Solanin, gallensaure Salze usw.

Alle diese Stoffe erniedrigen die Oberflächenspannung des Wassers, wenn sie mit demselben in Berührung, oder in demselben gelöst sind, in hohem Maße.

Fettsaure Salze, wie Natriumacetate, sind nach Löb nicht ganz unwirksam, aber bei weitem nicht so wirksam, wie die freien Fettsäuren.

Die Konstante der Oberflächenspannung ist für

		γ_{15}
n/4	Natriumacetat	7,31
„	Essigsäure	6,81

[1]) Traube, Verhdl. d. Deutsch. physikal. Ges. 10, 891, 1908.

Man erkennt, daß die Übereinstimmung meiner Annahmen mit den Versuchsergebnissen von Löb durchaus befriedigend ist. Daß übrigens noch sekundär konstitutionelle Einflüsse bei der Parthenogenese mitwirken können, soll nicht in Abrede gestellt werden.

Dagegen kann ich den Annahmen von Löb l. c. nicht zustimmen. Löb meint, daß der Teilungskoeffizient im Sinne von Overton sowie die Geschwindigkeit der Osmose maßgebend ist, und daß Säuren, wie beispielsweise die starken Mineralsäuren, welche in Lipoiden unlöslich sind, in der Weise wirken, daß sie aus den in der Hülle des Eies etwa vorhandenen fettsauren Salzen die Säuren freimachen.

Wäre diese Annahme richtig, so wäre es unverständlich, weshalb die starken Mineralsäuren nicht besser, sondern schlechter wirken als die zweibasischen organischen Säuren, und wenn der Teilungskoeffizient Öl : Wasser maßgebend wäre, dann dürften die genannten Säuren, ja selbst die Milchsäure, Oxybuttersäure und Stoffe wie Natriumacetat usw. überhaupt nicht wirksam sein, da ich kürzlich[1]) gezeigt habe, daß ein in Wasser gelöster Stoff nur dann in eine zweite lipoide Phase eintritt, wenn die Oberflächenspannungserniedrigung der wäßrigen Phase einen gewissen Schwellenwert überschreitet. So geht beispielsweise beim Schütteln alkoholischer oder essigsaurer Benzollösungen mit Wasser sämtlicher Alkohol, bzw. Essigsäure in das Wasser über, da die Oberflächenspannungserniedrigung des Wassers durch Äthylalkohol oder Essigsäure jenen Schwellenwert nicht erreicht. Die fernere Annahme Löbs, daß die Geschwindigkeit des Eintritts der Säuren in die Eizelle für ihr Verhalten maßgebend sein soll, steht mit den Werten der Diffusionskonstanten der freien Säuren in schroffstem Widerspruch, und die Behauptung Löbs, daß die Eier zu ihrer Entwicklung in reines Seewasser zurückgebracht werden, weil die freien Wasserstoffjonen schädlich seien, ist doch recht unbefriedigend.

Nach meiner Ansicht ist es allerdings nötig, daß die betreffenden Säuren in die Oberfläche des Eies eindringen (oder adsorbiert werden), aber es ist gleichgültig, ob dieselben, wie etwa die höheren Fettsäuren von den Lipoiden des Eies oder

[1]) Verhdl. d. Deutsch. physikal. Ges. 10, 901, 1908.

wie die zweibasischen Säuren usw. von der kolloidalen wäßrigen Phase gelöst werden. Ein sekundärer Faktor ist auch die Geschwindigkeit des Eindringens.

Maßgebend aber ist die capillare Druckdifferenz, welche infolge des Eindringens (oder der Adsorption) zwischen der Oberfläche des Eies und dem umgebenden wäßrigen Medium sich herausbildet.

Für ein Ei, welches beispielsweise Buttersäure aufgenommen hat, ist diese Druckdifferenz in buttersäurehaltigem Seewasser = 0 oder sehr gering, sie ist aber groß in buttersäurefreiem Seewasser, und noch ein wenig größer, wenn dasselbe hypertonisch ist.

Diese Deutung, welche ich den interessanten Versuchsergebnissen von Löb hiernach gebe, verdient schon deshalb Beachtung, weil es sich im vorliegenden Falle nur um einen Spezialfall von zahlreichen biologischen, physiologischen und pathologischen Vorgängen handelt, auf welche sich meine experimentell begründete Annahme über das Wesen der osmotischen Kraft mit gleichem Erfolge anwenden läßt.[1]) Ich erinnere an die Hämolyse der Blutkörperchen, die narkotische und bakterizide Wirkung gewisser Stoffe usw.

Schließlich möchte ich mir erlauben, an Herrn Löb die Frage zu richten, ob Säureester eine wesentlich geringere parthenogenetische Wirksamkeit entfalten als die isomeren Fettsäuren, denn da auch zahlreiche nicht saure Stoffe membranbildend wirken, so wäre es doch bedeutungsvoll, zu wissen, ob und wie weit überhaupt die „Säurenatur der wirksamen Stoffe" mitwirkt.

---

[1]) Traube, Pflügers Arch. 105, 541 u. 559, 1904 und 123, 419. 1908 und diese Zeitschr. 10, 371—403, 1908. Traube und Blumenthal, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 2, 117, 1905.

Zur Kenntnis des Kephalins.

Von

Fritz Falk, Graz.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Straßburg.)

(Eingegangen am 21. Januar 1909.)

Wie ich in meiner Arbeit über die Zusammensetzung der peripheren Nerven erwähnt habe,[1] weisen die vorliegenden Angaben über das Kephalin keine befriedigende Übereinstimmung auf. Besonders auffällig ist aber, daß sich mir die Zusammensetzung des aus Menschenhirn einerseits, aus menschlichem Ischiadicus andererseits erhaltenen Kephalins als wesentlich verschieden herausstellte, obgleich die Darstellungsmethode in beiden Fällen die gleiche war. Das Hirnkephalin ergab ein Verhältnis von P : N gleich 1 : 2, während sich für das Ischiadicuskephalin das Verhältnis 1 : 1 ermitteln ließ, letzteres in Übereinstimmung mit den von Thudichum, Koch und Cousin für Gehirnkephalin erhaltenen Werten. Ich habe damals bemerkt, daß die beobachteten Verschiedenheiten auf die Existenz mehrerer der Kephalingruppe angehöriger Individuen hinzudeuten scheinen, und habe weitere Untersuchungen in Aussicht gestellt.

Leider habe ich die Absicht, auf diesem Wege die Natur des Kephalins aufzuklären, aus äußeren Gründen aufgeben müssen. Im nachstehenden teile ich nur die mir schon bei Publikation der angeführten Arbeit vorliegenden Beobachtungen mit, soweit sie zur Erläuterung des dort geäußerten und zur Förderung weiterer einschlägiger Versuche dienen können.

I. Darstellung des Kephalins.

Frisches Menschenhirn wird von seinen Häuten, von gröberen Gefäßen und von Blut gereinigt, durch ein feines Sieb getrieben,

[1]) Diese Zeitschr. **18**, 153.

der Brei auf Glasplatten aufgestrichen und bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur getrocknet.

Benzolextraktion. 500 g dieses sich fettig anfühlenden Trockenpulvers werden mit ca. 2 l Benzol im Kolben 8 Stunden kochend extrahiert. Die dunkelbraun gefärbte, grünlich fluorescierende Lösung wird kalt vom unlöslichen Rückstand abgesaugt, letzterer getrocknet, fein gepulvert, und die Extraktion so oft wiederholt, bis frisches Extraktionsmittel nichts mehr aufnimmt. Die Extrakte werden vereinigt und das Benzol durch Destillation im Vakuum bei 50° vollständig entfernt. Es bleibt eine braune, zähe, schaumige Masse zurück.

Acetonbehandlung. Diese Masse wird mit ca. 1 l Aceton übergossen und auf dem Wasserbad mit Rückflußkühler längere Zeit gekocht. Das Lösungsmittel färbt sich dabei gelb. Aus dem heißen Filtrat krystallisiert beim Erkalten Cholesterin aus. Es werden, solange viel Cholesterin in Lösung ist, auch Cerebroside und Phosphatide, die an sich darin unlöslich sind, aufgenommen. Auch Kephalin kann nachgewiesen werden. Der in heißem Aceton unlösliche Rückstand bleibt, am Glase haftend, als zähflüssige Masse zurück. Die Acetonbehandlung wird öfters wiederholt, bis alles Cholesterin extrahiert ist. Die späteren Auszüge sind immer weniger gefärbt.

Ätherbehandlung. Die zurückgebliebene erkaltete Masse wird mit 2 bis 3 l wasserfreiem Äther versetzt. Dabei gehen gefärbte Substanzen in Lösung und ein weißer Niederschlag setzt sich ab. Zum gründlichen Dekantieren muß der Kolben mit der Lösung 24 Stunden im Eisschrank stehen bleiben. Ist die Lösung über dem Niederschlag nicht vollständig klar, so wird die ganze Flüssigkeit zentrifugiert. Der Niederschlag, öfters mit Äther gewaschen, trocknet zu einer leicht gelben, harten, wachsartigen Masse ein. Es handelt sich um die Hauptmenge der Cerebroside. Die ätherische Lösung soll auch nach dem Einengen keinen Niederschlag geben.

Diese Lösung enthält die große Menge der Phosphatide. Im durchfallenden Licht ist sie dunkelbraunrot gefärbt, im auffallenden Licht zeigt sie sehr deutliche grüne Fluorescenz, wie dies gewöhnlich Kephalinlösungen tun.

Alkoholbehandlung. Die eingeengte ätherische Lösung wird mit der mehrfachen Menge absoluten Alkohols versetzt,

wobei das Kephalin als lichtgelber flockiger Niederschlag ausfällt und durch Zentrifugieren von der Äther-Alkohollösung getrennt wird. Hat man mit wasserfreien Lösungsmitteln gearbeitet, und war bei der Ätherbehandlung der Lösung keine Gelegenheit gegeben worden, Wasser aus der Luft aufzunehmen, so fällt schon nach dem ersten Alkoholzusatz das Kephalin flockig aus. Im anderen Fall setzt sich an den Wänden des Gefäßes ein brauner schleimiger Niederschlag ab. Dieser muß wieder mit wasserfreiem Äther aufgenommen und mit Alkohol gefällt werden.

Aus der Äther-Alkohollösung kann man dann neuerdings Kephalin gewinnen, indem man im Vakuum abdestilliert, den Rückstand mit wenig Äther löst und wieder mit Alkohol fällt. Die Kephalinniederschläge werden gesammelt und im Vakuum über Schwefelsäure aufbewahrt. Die auf diese Weise erhaltene Ausbeute an Rohkephalin beträgt ca. 10% des trockenen Ausgangsmaterials.

Reinigung. Da alle Versuche Kephalin krystallisiert zu erhalten, fehlschlugen, so habe ich mich bei der Reinigung des Kephalins, wie auch Koch und Cousin, auf die Anwendung von Lösungsmitteln beschränkt. Bei der Veränderlichkeit des Kephalins schien mir die Anwendung eingreifenderer Reagenzien (Salzsäure, Metallsalze) nicht rätlich.

Das Rohkephalin wurde demnach wiederholt in Äther gelöst und mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit absolutem Alkohol ausgekocht. Ein Präparat wurde überdies mit heißem Essigäther gelöst, aus dem das Kephalin beim Erkalten wieder ausfiel.

II. Eigenschaften und Zusammensetzung.

Da meine Kephalinpräparate bei der Analyse eine von den vorliegenden Angaben abweichende Zusammensetzung ergaben, seien deren Eigenschaften kurz angeführt, obgleich sie in der Hauptsache den Beobachtungen von Thudichum[1]) und von Koch[2]) entsprechen.

Das erhaltene Kephalin war ein amorphes, lichtgelb gefärbtes, sehr stark hygroskopisches Pulver von deutlich elektri-

[1]) Chemische Konstitution des Gehirns. Tübingen 1901.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 35 u. 37.

schen Eigenschaften. Wurde etwas davon mit Essigäther verrieben und letzterer im Vakuum abgedunstet, so ließ der Rückstand — zwischen gekreuzten Nicols betrachtet — Doppelbrechung und Farbenwechsel erkennen. Krystalle waren nie wahrnehmbar. Es war gut löslich in Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff, schlechter löslich in Eisessig, unlöslich in kaltem und warmem absoluten Alkohol und Aceton. In heißem Essigäther löste es sich und fiel beim Erkalten zum Teil wieder aus, desgleichen im Amylalkohol. In Chloroform, Eisessig oder Schwefelkohlenstoff gelöst wurde es durch Aceton im Überschuß schlechter gefällt als durch Alkohol. In Äther war es in allen Verhältnissen löslich und fiel bei Abkühlung der Lösung auf — 5° bis — 10° in leichten Flocken aus. In Wasser aufgenommen quoll es auf, löste sich zu schleimigen Fäden und gab schließlich eine auch in stärkeren Konzentrationen gut haltbare kolloidale Lösung. Daraus wurden mit den meisten Reagenzien Kephalinverbindungen ausgefällt, die teils ein gequollen-gelatinöses, teils ein mehr oder weniger voluminös-flockiges Aussehen hatten. Koch hat eine Reihe solcher Fällungen genauer beschrieben. Der Schmelzpunkt wurde bei wiederholter Darstellung zwischen 176 bis 180° gefunden. Es schmolz zu gelben öligen Tropfen und zersetzte sich erst bei etwas höherer Temperatur. Ein über Schwefelsäure im Vakuum aufbewahrtes Präparat wurde nach ca. 3 Monaten verändert gefunden. Es roch ranzig und zersetzte sich jetzt über 130° ohne zu schmelzen.

Zur Analyse kamen 2 Präparate, welche die in meiner früheren Arbeit angeführten Zahlen ergaben.

	C	H	N	P
Präparat I	56,74	9,03	2,91	3,28
			2,90	
Präparat II	57,56	9,21	2,59	3,08
			2,93	3,23

P : N in Präparat I = 1 : 1,96
in Präparat II = 1 : 1,93

Wie schon erwähnt, enthielten meine Präparate im Verhältnis zum Phosphor einen doppelt so hohen Stickstoffgehalt, als er sonst bei Kephalinpräparaten beobachtet ist. Thudichum weist auf die Existenz eines Amidokephalins hin. Bei dem Umstand, daß es bisher nicht gelungen ist, das Kephalin

krystallisiert zu erhalten, möchte ich mich jedoch weiterer Schlußfolgerungen enthalten.

III. Oxydation der Kephalinsäure.

Die Spaltungsprodukte des Kephalins sind von Thudichum[1]) und von Cousin[2]) studiert werden. Thudichum hydrolysierte mit kaustischem Natron und mit Baryt. Unter den Spaltungsprodukten fand er Glycerinphosphorsäure, drei verschiedene Basen, wovon er eine als Neurin anspricht, und zwei Fettsäuren, und zwar Stearinsäure, deren Schmelzpunkt meist etwas unter 69,5° lag, und eine flüssige, ungesättigte Fettsäure, der er den Namen Kephalinsäure gab. Durch diese „spezifische" Fettsäure soll die Gruppe der Kephaline in ähnlicher Weise charakterisiert sein, wie die Lecithane durch die Ölsäure. Er analysierte verschiedene Präparate von kephalinsaurem Barium. Die aus den gefundenen Werten berechneten Formeln schwanken zwischen $Ba(C_{19}H_{31}O_3)_2$, $Ba(C_{18}H_{30}O_3)_2$ und $Ba(C_{17}H_{30}O_3)_2$.

Cousin untersuchte bloß die Fettsäuren. Er spaltete sein Kephalinpräparat zuerst 2 bis 3 Stunden mit verdünnter Salzsäure, dann 15 bis 16 Stunden mit alkoholischer Natronlauge, und fand zwei Arten von Fettsäuren.

1. feste, gesättigte, unter diesen eine Stearinsäure, die er mit der gewöhnlichen Stearinsäure identifiziert, und

2. flüssige, ungesättigte, unter diesen eine Fettsäure, die er als der Linolsäurereihe angehörig bezeichnet. Er nennt sie ebenfalls Kephalinsäure und berechnet aus den Analysenzahlen für die freie Säure die Formel $C_{18}H_{32}O_2$. Eine der Ölsäure entsprechende Fettsäure fand er nicht.

Zur Spaltung meiner Kephalinpräparate verwandte ich, da meine Hauptaufmerksamkeit auf die Kephalinsäure gerichtet war, Barythydrat. Es zeigte sich bald, daß zur vollständigen Absättigung der entstehenden Spaltungsprodukte sehr viel Bariumhydroxyd notwendig war. Es wurde dabei so verfahren, daß Kephalin in Portionen von 20 bis 25 g in dem 100fachen Gewicht destillierten Wassers zu einer gleichmäßigen Emulsion gelöst, und allmählich zu der in einem geräumigen Silberkessel

[1]) a. a. O.

[2]) Journ. d. Pharm. et Chim. [6] 24, 101, 1906.

befindlichen heiß gesättigten Barytlösung zugesetzt wurde. Das Kochen wurde 12 bis 16 Stunden unterhalten. Nach dieser Zeit enthielt der ätherische Auszug aus einer Probe des filtrierten Rückstandes keinen Phosphor mehr, so daß ich annehmen konnte, daß alles Kephalin bis zu den Fettsäuren gespalten war. Nun wurde die ganze Flüssigkeit heiß abgesaugt und der Rückstand mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion nachgewaschen.

In dem wässerigen Filtrat konnte ich nach Entfernen des überschüssigen Bariums mit Kohlensäure, Einengen der Flüssigkeit bis zur Trockene und Extraktion der alkohollöslichen Substanzen, in dem Rückstand Glycerinphosphorsäure nachweisen. Unter den alkohollöslichen Substanzen suchte ich nach den stickstoffhaltigen Basen, doch ohne Erfolg.

Das auf dem Filter zurückgebliebene lichtgelbe Pulver enthielt die Bariumsalze der Fettsäuren und außerdem phosphorsaures und kohlensaures Barium. Es wurde in den ersten Versuchen gut getrocknet und im Soxhletapparat in kleinen Portionen mit Äther extrahiert.

Da diese Extraktion längere Zeit in Anspruch nahm und schlechte Ausbeuten gab, so wurde bei weiteren Versuchen das gesamte pulverige Gemenge zunächst mit einer Lösung von kohlensaurem Ammonium auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit Ammoniakwasser aufgenommen und die Lösung mit Chlorbarium versetzt, wodurch die Bariumseifen der Fettsäuren ausfielen. Diese wurden auf einem Filter gesammelt, mit Wasser gründlich nachgewaschen, auf dem Wasserbad und nachträglich im Vakuumexsiccator getrocknet. Das trockene Pulver wurde in einem Kolben mit viel wasserfreiem Äther versetzt und nach Zufügen von Tierkohle am Rückflußkühler eine Zeit lang im Sieden erhalten.

Durch die Behandlung mit Äther wurden die ätherlöslichen fettsauren Bariumsalze von den ätherunlöslichen getrennt. Aus den letzteren wurde nach Zerlegen mit Säure und öfterem Umkrystallisieren aus Alkohol eine in zarten Plättchen krystallisierende Fettsäure mit dem Schmelzpunkt 65 bis 66° gewonnen. Es ist dies der Schmelzpunkt der von Cousin und Thudichum aus dem Kephalin isolierten Stearinsäure.

Die Lösung der ätherlöslichen Barytseifen war vollständig klar, dunkelbraunrot gefärbt und zeigte grüne Fluorescenz.

Sie verhielt sich nicht nur dem Aussehen, sondern auch den Fällungsreaktionen nach ähnlich einer ätherischen Kephalinlösung. Sie wurde eingeengt und mit Alkohol im Überschuß gefällt, das in lichtgelben Flocken ausfallende kephalinsaure Barium abzentrifugiert, mit absolutem Alkohol nachgewaschen und getrocknet.

Kephalinsäure. Wurde die Bariumseife mit Salzsäure gespalten, so fiel die freie Fettsäure in groben Flocken aus, die gesammelt und mit Wasser gewaschen eine pastöse, gelatinöse Masse gaben. Die Kephalinsäure ist auch in Aceton und Alkohol gut löslich. Krystallisationsversuche mit der freien Fettsäure blieben ohne Erfolg. Da die freie Säure und ihre Salze die für analytische Zwecke verlangte Gewähr der Reinheit nicht boten, so wurde zunächst versucht, in anderer Weise zu einem krystallinischen, gut definierbaren Derivat zu gelangen.

Bromierung führte nicht zum Ziel. Dem in Eisessig gelösten kephalinsauren Barium wurde in der Kälte Brom tropfenweise zugesetzt. Die Flüssigkeit entfärbte anfangs das zugeführte Brom sehr rasch, später langsamer. Es trat dabei ein feiner flockiger Niederschlag auf, der als bromierter Körper nachgewiesen werden konnte und eigentümliche Lösungsverhältnisse zeigte. Ein krystallinisches oder doppelbrechendes Reaktionsprodukt konnte ich nicht erhalten.

Befriedigende Resultate gab die Oxydation mit Kaliumpermanganat.

Hazura und Friedreich[1]) oxydierten eine Anzahl von flüssigen, ungesättigten der Linolsäurereihe angehörenden Fettsäuren mit Permanganat bei alkalischer Reaktion und erhielten krystallisierende Polyoxyfettsäuren mit charakteristischem Schmelzpunkt. Saytzeff[2]) bediente sich des Permanganates zur Oxydation der Ölsäure, aus der er eine Dioxystearinsäure vom Schmelzpunkte 136,5° erhielt.

Es lag nahe, einen ähnlichen Versuch mit der Kephalinsäure zu machen.

Kephalinsaures Barium wurde mit einer wässerigen Lösung von Kaliumcarbonat gekocht, das Bariumcarbonat durch Zentrifugieren von der opalisierenden Lösung getrennt. Die letztere wurde in einen großen Kolben gebracht, mit ca. 50 ccm kon-

---

[1]) Monatshefte f. Chem. 1887.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. 2.

zentrierter Kalilauge versetzt, stark verdünnt und durch allmähliches Einführen einer 3%igen Kaliumpermanganatlösung anfangs bei gewöhnlicher Temperatur, später unter Erwärmen oxydiert. Die Entfärbung ging anfangs prompt vor sich. Nach beendeter Oxydation war der Niederschlag des braunroten Mangansuperoxyds suspendiert in einer farblosen, wasserklaren Lösung. Es wurde nun soviel Natriumbisulfitlösung eingebracht, bis auf Zusatz von Salzsäure der Braunsteinniederschlag sich vollständig löste. Als saure Reaktion eingetreten war, fiel reichlich ein flockiger weißer Niederschlag einer Fettsäure aus. Dieser wurde auf ein Filter gebracht, gründlich mit Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet.

Die erhaltene Fettsäure wurde in Aceton gelöst, von den anorganischen Beimengungen befreit, und nach dem Einengen die konzentrierte Lösung der Krystallisation überlassen. Es krystallisierten zarte kugelförmige Gebilde aus, die unter geeigneten Bedingungen zu großen scholligen Formen zusammenwuchsen. Mikroskopisch zeigten die Krystallaggregate im durchfallenden Licht stellenweise eine konzentrische Schichtung.

Der Schmelzpunkt ging nach öfterem Umkrystallisieren von 100° bis 122° hinauf. Die bei der letzten Krystallisation schön ausgebildeten Krystallgruppen wurden für die Analyse verwendet. Sie gaben ein etwas gelb gefärbtes Pulver mit dem Schmelzpunkt 122°.

0,0882 g Substanz gaben 0,2214 g CO_2 resp. 68,46% C
0,0973 g H_2O resp. 12,34% H

Gefunden:	Berechnet für $C_{19}H_{38}O_4$	Berechnet für $C_{18}H_{36}O_4$
C = 68,46%	C = 69,03%	C = 68,30%
H = 12,34%	H = 11,59%	H = 11,47%
O = 19,20%	O = 19,38%	O = 20,23%

Der Wasserstoffwert ist offenbar zu hoch, die berechnete Formel daher nur von orientierendem Wert. Näheres über die Natur der Substanz sollen weitere im hiesigen Laboratorium in Gang befindliche Untersuchungen lehren.

Über das Nucleoproteid des Eiters.

Von

Ferdinando Strada, Pavia.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 21. Januar 1909.)

I.

In einer 1837 erschienenen Dissertation hat Güterbock[1]) darauf aufmerksam gemacht, daß sich im Eiterserum neben anderen Eiweißstoffen ein durch Essigsäure fällbarer, im Überschuß der Säure unlöslicher Eiweißkörper findet. Er suchte ihn in der Art zu isolieren, daß er Eiter mit kochendem Alkohol koagulierte, die Flüssigkeit kolierte und den Niederschlag mit Wasser auszog. Dabei ging der durch Essigsäure fällbare Körper neben wenig Eiweiß in Lösung, während die Hauptmasse der Eiweißstoffe ungelöst zurückblieb. Güterbock nannte den Körper „Pyin". Er ist seitdem von den Autoren öfters erwähnt, aber nur sehr unvollkommen untersucht worden.

C. G. Lehmann[2]) gibt an, daß sich das Pyin nicht in jedem Eiter findet. Im Wundeiter gesunder Personen soll es ganz fehlen.

Boedeker[3]) fand es im Eiter bei Phosphornekrose und in einem Muskelabsceß, vermißte es aber in einem Senkungsabsceß.

Scherer[4]) versuchte die Zusammensetzung des Pyins zu ermitteln. Er koagulierte die eitrige Flüssigkeit durch Kochen,

---

[1]) L. Güterbock, De pure et granulatione. Berlin 1837.

[2]) C. G. Lehmann, Lehrb. d. physiol. Chem. 3, 135, 1853, 2. Aufl.

[3]) Boedeker, Kleine Beiträge zur chemischen Kenntnis des Eiters. Zeitschr. f. rat. Med. 6, 1, 188, 1855. N. F.

[4]) J. Scherer, Chemische und mikroskopische Untersuchungen zur Pathologie. Heidelberg 1843.

fällte das Filtrat mit Alkohol und extrahierte den Niederschlag nacheinander mit kochendem Alkohol, mit Äther und Wasser, bzw. als sich der Niederschlag etwas wasserlöslich erwies, mit verdünntem Alkohol. Ein Präparat, das aus dem durch Einschnitt entleerten Eiter einer Struma inflammatoria stammte, gab nach Abzug der reichlich vorhandenen, vorzugsweise aus Kalk und Phosphorsäure bestehenden Asche folgende Zahlen:

C = 54,856 H = 7,257 N = 15,339 $^0/_0$.

Die Analyse eines zweiten Präparats, das Scherer selbst für minder zuverlässig erklärt, ergab:

C = 52,147 H = 7,206 N = 22,361 $^0/_0$.

Hoppe-Seyler[1]) bemerkt, daß er bei wiederholten Versuchen weder im Eiterserum noch in den Eiterkörperchen „Pyin" angetroffen habe.

Hingegen spricht sich Hammarsten[2]) dahin aus, daß der Eiter bisweilen, nämlich wenn er längere Zeit im Körper verweilt habe, ein, wie es scheint, durch Maceration der Eiterzellen aus der hyalinen Substanz derselben entstandenes Nucleoalbumin oder Nucleoproteid enthalte, das von Essigsäure gefällt und von überschüssiger Säure nur sehr schwer gelöst werde. Er hält es für das Pyin älterer Autoren. Dieses scheine daher ein Nucleoproteid zu sein.

II. Darstellung und Zusammensetzung des Nucleoproteids.

Auf Wunsch von Prof. Hofmeister habe ich mich bemüht, größere Mengen des wenig studierten Körpers darzustellen und ihn der Analyse zuzuführen.

Die von mir untersuchten Eiterproben stammten zumeist aus vom Chirurgen entleerten Kongestionsabscessen. Es gelang gelegentlich erhebliche Mengen von Eiter (bis zu $2^1/_2$ Liter) zu erhalten. In einem Fall wurde der Eiter bei der Autopsie gewonnen. Daneben habe ich auch nichttuberkulösen Eiter untersucht, in dem Streptokokken und Staphylokokken nachgewiesen waren. In der Regel wurde der Eiter vor der Verarbeitung der Autolyse unterworfen. Da der Eiter schon beim Verweilen in der Eiterhöhle autolytische Veränderungen

---

[5]) F. Hoppe-Seyler, Physiol. Chem., 787, 1881.

[6]) O. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem., 267, 1907, 6. Auflage.

durchmacht, so erscheint die Autolyse des entleerten Eiters nur als eine Weiterführung der in vivo begonnenen Veränderungen. In der Tat nimmt auch der aus ganz frischen Abscessen entleerte Eiter bei der Autolyse zusehends eine Beschaffenheit an, die dem Eiter chronischer Prozesse ähnelt.

Für die Darstellung des Pyins ist die bei der Autolyse statthabende Selbstverdauung von großem Vorteil, da sie seine Trennung von anderen weniger widerstandsfähigen Eiweißstoffen außerordentlich erleichtert.

Ich verfuhr in der Regel wie folgt: Die eitrige Flüssigkeit wurde in der Schüttelmaschine mit einem Überschuß von Toluol aufs innigste gemischt; dann 2 bis 4 Wochen im Brutofen bei 40° C gehalten, wobei sich zwei Schichten bildeten; eine untere durchsichtige von grüner oder grünbrauner Farbe, und eine obere rahmähnliche von gelblichem Ton. Wenn sich diese Trennung vollzogen hatte, dekantierte ich die rahmähnliche Schicht ab, filtrierte die untere durchsichtige Flüssigkeit und versetzte sie (nach Verdünnung mit 1 bis 2 Volumen Wasser) mit 2—3 %iger Essigsäure, bis der ausfallende schleimig-flockige Niederschlag nicht mehr zunahm.

Ähnlich verfuhr ich mit Eiter aus chronischen Abscessen, wo von der Autolyse abgesehen wurde. Der Eiter wurde mit 2 bis 3 Volumen 0,9 %iger Kochsalzlösung versetzt, in der Schüttelmaschine geschüttelt, dann zentrifugiert. Der genügend klare Teil der Flüssigkeit wurde dann mit Essigsäure gefällt.

Die Ausbeute an der essigsäurefällbaren Substanz war anscheinend bei autolysiertem tuberkulösen Eiter am reichlichsten, etwas geringer bei autolysiertem Staphylokokken-Eiter und bei tuberkulösem nicht autolysierten Eiter.

Der Essigsäureniederschlag wurde durch Filtrieren oder durch Zentrifugieren gesammelt, unter Zusatz von möglichst wenig Lauge in Wasser gelöst, die verdünnte Lösung filtriert, neuerdings mit Essigsäure ausgefällt und die Umfällung noch zwei bis dreimal wiederholt.

Dabei verlor die Substanz allmählich ihre ursprüngliche schleimige und fadenziehende Beschaffenheit; die Fällung erschien schließlich kleinflockig.

Die mit Wasser, Alkohol und Äther erschöpfte, erst im Vakuum, zuletzt bei 100° getrocknete Substanz, stellte ein

weißes bis gelbliches Pulver dar. Sie war in Essigsäure unlöslich, löste sich, wenngleich schwierig, in verdünnter Lauge, und zeigte die allgemeinen Eiweißreaktionen. Sie enthielt eine erhebliche Menge von Phosphor. Nachstehend die Zusammensetzung von verschiedenen Präparaten (Schwefel wurde nicht bestimmt):

	C %	H %	N[1]) %	P[2]) %	Asche %
Eiter I (tuberkulöser Eiter), 15-tägige Autolyse	49,65	7,10	15,96	0,65	—
Eiter II (tuberkulöser Eiter), 21-tägige Autolyse	50,08	6,98	15,50	0,80—0,86	—
Eiter VI (tuberkulöser Eiter), nicht autolysiert . . .	48,76	7,30	16,00	1,56	2,17[3])
Eiter III (Staphylokokken- und Streptokokken-Eiter), 20-tägige Autolyse	—	—	—	0,58	—

Ein Teil der aus Eiter II erhaltenen Substanz, die im Mittel 0,83 $^0/_0$ P enthielt, wurde nach der letzten Essigsäurefällung in Barytwasser gelöst. Sie ging zum größten Teil in Lösung. Der abfiltrierte Rückstand wurde mit Essigsäure von Baryt befreit und enthielt dann getrocknet 2,02 $^0/_0$ Phosphor.

Der aus der Lösung mit Essigsäure fällbare Körper gab 0,63 $^0/_0$ Phosphor. Er wurde nochmals in Barytwasser gelöst und neuerdings mit Essigsäure gefällt. Die ausgewaschene Substanz ergab den gleichen Phosphorgehalt (0,63 $^0/_0$).

Bei Kochen mit 2 $^0/_0$iger und mit 5 $^0/_0$iger Schwefelsäure durch 3 Stunden wurde keine reduzierende Lösung erhalten. Der Versuch, Nucleinbasen mit Hilfe der Silberfällung nachzuweisen, gab trotz jedesmaliger Verwendung von etwa $^1/_2$ g Substanz, das eine Mal eine zweifelhafte, das andere Mal eine deutliche, aber sehr geringe Trübung.

Diese Ergebnisse bestätigen die Richtigkeit von Hammarstens Angabe über das Vorkommen von Nucleoproteid im Eiter. Unzweifelhaft hat Güterbocks „Pyin“ der Haupt-

[1]) Bestimmt nach Dumas.
[2]) Bestimmt nach Neumann.
[3]) Fast ausschließlich Phosphorsäure.

sache nach aus diesem Nucleoproteid bestanden. Daß die Analysen Scherers abweichende Zahlen ergaben, erklärt sich aus dem Umstand, daß er das Pyin nicht durch Essigsäurezusatz, sondern durch Alkoholfällung darstellte, wobei naturgemäß eine Beimengung anderer eiweißartiger und sonstiger Stoffe eintrat, die durch das nachfolgende unvollkommene Auswaschen (mit verdünntem Alkohol) nicht beseitigt wurde. Übrigens bietet auch die von mir angewendete Darstellungsmethode keine Gewähr für die Einheitlichkeit des durch Essigsäure fällbaren Eiweißkörpers. Auch möchte ich die Frage, ob es sich um ein echtes Nucleoproteid oder einen Pseudonucleinkörper handelt, noch nicht für endgültig entschieden halten. Es dürfte sich daher vorläufig empfehlen, den historisch gegebenen, nicht weiter präjudizierenden Namen „Pyin" für den aus Eiterserum durch Essigsäure fällbaren, im Überschuß unlöslichen, phosphorhaltigen Körper festzuhalten.

III. Ist das „Pyin" bei der amyloiden Entartung beteiligt?

Bekanntlich haben chronische Eiterungen einen hervorragenden Anteil an der Entwicklung der Amyloidose beim Menschen. Auch bei Tieren läßt sich durch Erzeugung von Abscessen amyloide Entartung herbeiführen. Welche Bedeutung dabei dem Eiter und seinen Bestandteilen zukommt, ist nicht aufgeklärt.

Manche Beobachter sind geneigt, eine solche Bedeutung ganz zu leugnen und die Amyloidose ganz als Folge der Lebenstätigkeit von Mikroorganismen aufzufassen. Die Abscesse wären dieser Auffassung zufolge nur die Bildungsherde der Amyloid erzeugenden Bakteriengifte [Krawkow[1])]. Hingegen sprechen zahlreiche Versuche, wo durch Injektion von Terpentinöl, Silbernitrat, Kupfersulfat [Czerny[2]), Nowak[3]), Schepilewsky[4])], durch Injektion von Fermenten (Schepilewski), namentlich

---

[1]) N. P. Krawkow, De la dégénerescence amyloide etc. Arch. de Med. experim. et d'Anat. pathol. 1896, No. 1 et 2.

[2]) A. Czerny, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31, 1893.

[3]) Nowak, Experimentelle Untersuchungen über die Ätiologie der Amyloidosis. Virchows Archiv 152, 162 1898.

[4]) Schepilewski, Experimentelle Beiträge zur Frage der amyloiden Degeneration. Centralbl. f. Bakter. O. P. 25, 849 1899.

aber durch Injektion von abgetöteten Bakterien oder Bakterienproteinen [Davidsohn[1]), Kretz[2])] Amyloidbildung herbeigeführt werden konnte, dafür, daß es dazu lebender Bakterien nicht bedarf.

Dies steht in Einklang mit der klinischen Beobachtung, daß Amyloidose auch bei Bildung von Geschwülsten (Sarkomen, Hypernephromen) auftreten kann, unter Bedingungen, die eine Infektion ausschließen. Wohl aber ist in solchen Fällen ein intravitaler Zellzerfall anzunehmen. Auch wenn bei Tieren auf Injektion von Kulturflüssigkeiten, abgetöteten Kulturen, z. T. auch von lebenden Bakterien, z. B. bei Hühnern, Amyloidose ohne vorgängige Abscessbildung zur Entwicklung kam, so ist damit ein Zerfall von Leukocyten oder anderen zelligen Elementen nicht ausgeschlossen.

Da die Milz einerseits bei der Amyloidose in hervorragender Weise beteiligt ist, andererseits zur Ablagerung von beim Zerfall der Leukocyten freiwerdenden Produkten dient, kann man daran denken, daß ihr dabei eine besondere Rolle zufällt. Dieser Umstand und das Vorkommen von Amyloid bei Leukämie, Pseudoleukämie und bei der Entwicklung multipler Myelome macht es begreiflich, daß man wiederholt an die Herkunft der in den Organen abgelagerten amyloiden Substanz aus Leukocyten gedacht hat. Zwar hat die Beobachtung von Czerny, betreffend das Vorkommen einer mit Jod sich färbenden Substanz in den Leukocyten, eine verschiedene Deutung erfahren, doch sind hervorragende Pathologen auch jetzt geneigt, anzunehmen, daß den Geweben von dem Erkrankungsherd aus durch das Blut zwar nicht das Amyloid selbst, wohl aber eine Vorstufe desselben zugeführt wird, die sich am Orte der Ablagerung erst in typisches Amyloid umwandelt [Ribbert[3]) Ziegler[4])]. Der Ursprung dieser Vorstufe wäre dann in zerfallenden Eiter- oder Gewebszellen zu suchen. Bei der Um-

---

[1]) C. Davidsohn, Untersuchungen über die Ätiologie des Amyloids. Virchows Archiv 192, Heft 2, 1908.

[2]) R. Kretz, Technik der Antikörpererzeugung an großen Tieren. Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung, 2, 29.

[3]) Ribbert, Lehrbuch der allgemeinen Pathologie, 229, 1091.

[4]) Ziegler, Lehrbuch der allgemeinen Pathologie, 11. Auflage, 231, 1905.

wandlung dieser Vorstufe kann an fermentative Vorgänge gedacht werden (Davidsohn). Die früher naheliegende Annahme, daß das Amyloid durch Verbindung eines Eiweißstoffs mit Chondroitinschwefelsäure entsteht, kann nach den jüngsten Feststellungen von Hanssen[1]), wonach das isolierte Amyloid keine Chondroitinschwefelsäure enthält, nicht mehr in Betracht kommen.

Nach dem Gesagten ist es gerechtfertigt, unter den Bestandteilen des Eiters eine Substanz zu suchen, die als Vorstufe des Amyloids den Organen zugeführt wird, oder aber auf anderem Wege zur Ablagerung von Amyloid Anlaß gibt.

Versuche, durch Injektion von bestimmten Eiterbestandteilen Amyloidose zu erzielen, scheinen bisher nicht angestellt worden zu sein. Von Interesse sind jedoch in dieser Richtung einige Versuche von Nowak (l. c.), bei denen der Eiter eines Empyems teils frisch, teils nach Sterilisation im Dampfkochtopf und Filtration durch sterilisierte Filter inokuliert wurde. Durch Injektion von 34 ccm bzw. 312 ccm solchen sterilen Eiters wurde bei zwei Hühnern typisches Amyloid in Milz, Leber und Niere hervorgerufen, obgleich eine echte Eiterung fehlte. Danach ist die amyloidogene Substanz, wie man sie nennen könnte, unter den hitzebeständigen Bestandteilen des Eiters zu suchen.

Da das Pyin ein sehr charakteristischer Bestandteil des Eiters ist, der bei chronischen Prozessen, wie sie vorzugsweise zu amyloider Infiltration führen, relativ reichlicher aufzutreten scheint, der ferner bei einfachem Erhitzen des nativen Eiters nicht koaguliert wird, so habe ich, als mir isoliertes Pyin in genügender Menge zur Verfügung stand, den Versuch unternommen, damit bei Mäusen Amyloidose hervorzurufen.

Es kamen dabei Pyinpräparate von Eiter II und VI (s. oben) zur Verwendung. Die Substanz wurde mit möglichst wenig Natronlauge in Wasser gelöst und die Lösung so weit verdünnt, daß sie 5% der trockenen Substanz enthielt. Die kaum alkalisch reagierende Flüssigkeit wurde an drei Tagen je 30 Minuten bei 100° gehalten. Von dieser Lösung wurde den Versuchstieren jeden zweiten Tag, zeitweise sogar täglich 0,7 bis 1,0 ccm intraperitoneal oder subcutan beigebracht.

Eine Anzahl der Tiere erhielt daneben im Hinblick auf den auch von Hanssen gefundenen erhöhten Gehalt der amyloiden Organe an Chondroitinschwefelsäure auch subcutane Injektionen von 0,5 bis 1,0 ccm einer 5%igen Lösung von chondroitinschwefelsaurem Natron. (Zwei

[1]) O. Hanssen, diese Zeitschr. 13, 185, 1908.

etwas kleinere Versuchstiere erhielten dieses allein. Sie gingen zuerst ein, nach 20 und 23 Tagen, zeigten außer Abmagerung keinerlei makroskopische Veränderungen.)

Die Injektionen hatten in keinem Falle nennenswerte örtliche Veränderungen zur Folge. Bei Tieren, die wenige Stunden nach einer Injektion zugrunde gingen, war bloß gelatinöses Ödem im Unterhautbindegewebe nachweisbar. 24 Stunden nach der Injektion war jede Spur desselben verschwunden. Nur in einem Falle beobachtete ich nach Injektion von Chondroitinschwefelsäure das Auftreten einer rotbraunen, harten Plaque von etwa 1 cm Durchmesser, die in 7 bis 8 Tagen verschwand.

Die Beobachtungsdauer betrug 16 bis 65 Tage. Zwei Mäuse, die bis zum 65. Tage lebten — die eine hatte Pyin von Eiter II, die andere von Eiter VI, und beide bis zum 40. Tage Chondroitinschwefelsäure erhalten — wurden mit Chloroform getötet.

Die Versuchstiere zeigten im allgemeinen mehr oder weniger ausgesprochene Abmagerung. In dieser Richtung war die Chondroitinschwefelsäure wirksamer als das Pyin. Die erwähnten zwei überlebenden Tiere erholten sich nach Aussetzen der Injektionen von Chondroitinschwefelsäure, obgleich die Beibringung von Pyin fortgesetzt wurde.

Das Resultat war in Betreff der Amyloidbildung durchaus negativ. Es wurde zwar in einigen Fällen Schwellung der Milz und Nieren, öfter der Lymphdrüsen beobachtet. In den Versuchen, wo intraperitoneale Pyininjektionen gemacht worden waren, fanden sich, bei Abwesenheit von peritonitischen Veränderungen, Milz und Nieren vergrößert, resistenter und von einem eigentümlichen Glanz, so daß an Amyloid gedacht werden konnte. Doch ergab die mikroskopische Untersuchung von Serienschnitten der Organe weder nach 2 bis 3stündiger Fixation in 10% Formalin, noch nach 3 bis 4stündiger Härtung in Alkohol oder Sublimat irgendwelche sichere Anzeichen von amyloider Infiltration.

Leider wurde verabsäumt, auch das frische Material mikroskopisch zu untersuchen.

Inwieweit dieses Ergebnis verallgemeinert werden darf, kann nur eine Wiederholung des Versuches, vor allem an anderen Tierarten lehren. Sollte sich das negative Ergebnis bestätigen, so ist damit noch nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, daß die phosphorfreie Komponente des Pyins Amyloid erzeugt. Dann aber müssen auch die mannigfachen anderen Bestandteile des Eiters nach dieser Richtung geprüft werden.

Über einschlägige, im physiologisch-chemischen Institut begonnene Versuche soll später berichtet werden.

Über Plastein.

II. Mitteilung.

Von

P. A. Levene und D. D. van Slyke.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research in New York.)

(Eingegangen am 9. Januar 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Resultate der Untersuchung über die hydrolytische Spaltung des Plasteins, über die in der ersten Mitteilung[1]) berichtet wurde, haben ergeben, daß Plastein aus denselben Komponenten wie die komplizierteren Proteine oder die primären Spaltungsprodukte derselben besteht. Der analytische Weg lieferte keine entscheidenden Beweise für die richtige Stellung des Plasteins. Man konnte auch nicht erwarten, mittels der Methode der Molekulargewichtsbestimmung über die echte Natur des Plasteins zu entscheiden.

Nun ist es aber bekannt, daß während der Verdauung[2]) der Proteine die Viscosität[3]) der ursprünglichen Lösung merklich abnimmt. Diese Beobachtung enthält in sich den Beweis, daß schon die Lösungen der primären Verdauungsprodukte eine niedrigere Zähigkeit als die nativen Proteine besitzen. Man konnte also durch die Viscositätsbestimmung einer Proteinlösung beurteilen, ob die gelöste Substanz das unveränderte Protein oder dessen Abbauprodukt vorstellt. In der folgenden Mitteilung sind die Resultate einer Untersuchung nach dieser Methode angegeben.

---

[1]) Diese Zeitschr. 13, 458, 1908.

[2]) Spriggs, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 465, 1902.

[3]) Bayliss, Journ. of Physiol. 36, 221, 1907.

Experimenteller Teil.

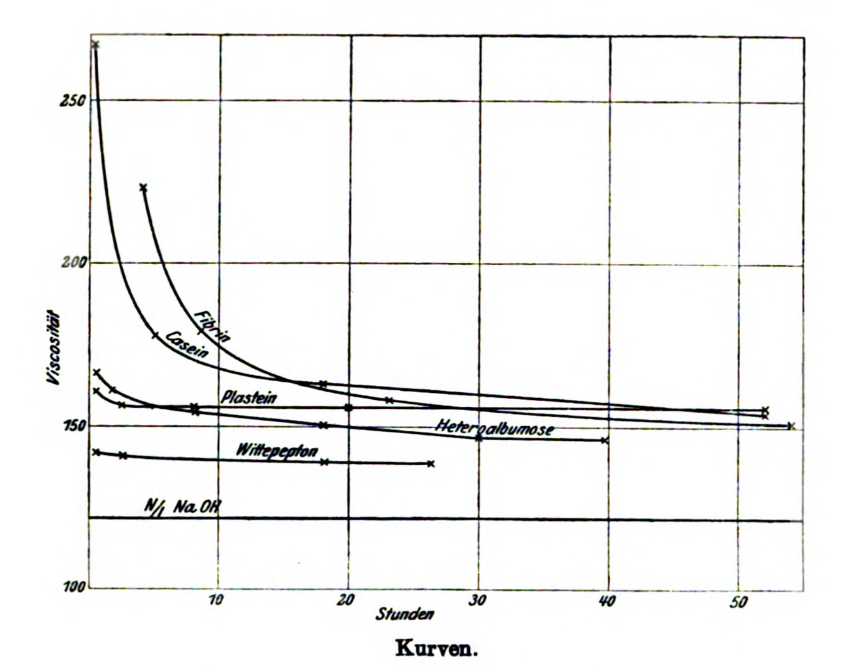
Fibrin und Plastein wurden bei Zimmertemperatur in normal Natronhydrat-Lösung aufgelöst (eine Menge entsprechend 0,400 g trockener Substanz in 10,0 ccm) und die Viscosität bestimmt, sobald völlige Lösung des Proteins erfolgt war. Zum Vergleiche wurden ähnliche Bestimmungen mit Heteroalbumose, Kasein (nach Hammarsten, von C. A. F. Kahlbaum), Glutein, Gliadin und Edestin angestellt. Die Resultate der Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle angegeben.

Die angegebenen Zahlen drücken das Verhältnis $\frac{100\ T}{Tw}$ aus, wobei T die Zeit ist, in welcher die betreffende Lösung bei 23° C durch das Ostwaldsche Viscosimeter fließt, und Tw die Zeit, welche destilliertes Wasser hierzu gebraucht. (Für das benutzte Viskosimeter war Tw = 126,0″). S ist der Zeitabstand von dem Momente an, wo die Substanz in die Normallösung eingetragen war, bis zur Zeit des Versuches. Die Versuche konnten nicht immer in genau denselben Perioden vorgenommen werden. Die Lösungen waren alle ganz klar, mit Ausnahme der des Gliadins, welche etwas trübe aussah.

Viscosität der Lösungen von Plastein, Heteroalbumose und Wittepepton

	Plastein		Heteroalbumose		Wittepepton
S	Viscosität	S	Viscosität	S	Viscosität
1/2	160,7	1/2	166,7	1/2	142,6
2 1/2	156,5	1 3/4	161,6	2 1/2	141,0
8	156,0	8	154,6	—	—
20	156,3	18	150,7	18	139,4
—	—	30	146,9	26	138,8
—	—	42	146,8	—	—
52	156,1	—	—	—	—

Die folgenden Kurven stellen graphisch einen Vergleich der Viskositätsverhältnisse von Plastein, Heteroalbumose, Wittepepton, Fibrin und Kasein dar.



Kurven.

Viscosität der Proteinlösungen.

S	Fibrin Viscosität	S	Kasein Viscosität	S	Gliadin Viscosität	S	Glutein Viscosität	S	Edestin Viscosität
—	—	1/4	266,8	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	2	175,9
4	223,1	5	178,0	—	—	—	—	3	169,1
8 1/2	179,2	—	—	8 1/2	181,4	9	247,8	10 1/2	153,0
23	158,3	18	163,3	24	165,1	26	226,1	28	146,3
54	151,3	52	154,6	47	155,5	—	—	53	143,1

Vergleicht man die Ergebnisse der Viscositätsmessungen an Plastein mit denen an Fibrin, so bemerkt man, daß die Fibrinlösung eine größere Viskosität als die Plasteinlösung aufweist. Sie nahm aber bald unter dem Einflusse der Alkalilösung ab und gegen Ende des Experiments sank sie unter die Viscosität der Proteinlösung. Zieht man in Betracht, daß es 4 Stunden dauerte, bis die letzten Flocken des Fibrins in Lösung gingen, und daß während dieser Zeit die Hauptmasse der

Substanz der Wirkung des Alkalis ausgesetzt war, so ist man berechtigt anzunehmen, daß die ursprüngliche Fibrinlösung noch eine größere Viscosität besaß, als die erste von uns gefundene.

Weiter merkt man, daß die Lösung von Plastein eine viel niedrigere Viscosität bei der ersten Messung besaß, obwohl die Substanz leicht in Lösung ging, so daß die ersten Messung nach 30 Min. nach dem Eintragen der Substanz in die Alkalilösung vorgenommen werden konnte. Die Viscosität bleibt nach einer kleinen Verminderung ziemlich konstant auch nach langdauernder Einwirkung des Lösungsmittels.

Die Beobachtungen an den Lösungen der anderen Proteine erwiesen, daß sie eine merklich größere Viscosität besaßen als Plastein, obwohl die Viscosität der Lösungen der verschiedenen Proteine voneinander etwas abweicht. Ähnlich wie bei der Fibrinlösung nahm die Viscosität mit der Dauer der Alkalieinwirkung ab, so daß endlich die Viscosität etwa unter diejenige der Plasteinlösung sank. Nur bei der Gluteinlösung ging die Erniedrigung nicht ganz so weit. Im Gegensatz zu den Beobachtungen an den Proteinen ergab die Viscositätmessung der Heteroalbumoselösung Zahlen, die denen der Plasteinlösung ähnlich waren.

Alle diese Resultate scheinen die Ansicht zu unterstützen, daß Plastein eher zur Gruppe der Proteosen als der nativen Proteine gehört. Wie bekannt, kommt die Bildung von Plasteinen zustande, wenn man die Enzyme auf konzentrierte Lösungen der Proteine oder Proteosen einwirken läßt, und es scheint möglich, daß die Plasteine wegen ihrer Schwerlöslichkeit unter diesen Bedingungen aus der Lösung ausfallen, obwohl auch sie nur Abbauprodukte sind.

Doch ist auch die Annahme, daß die Plasteine synthetisch auf Kosten der sekundären Proteosen gebildet sind, nicht ganz ausgeschlossen; wir hoffen, diese Frage weiter verfolgen zu können.

Zur Lehre von der Säurevergiftung.

III. Mitteilung.

Von

Hans Eppinger und Fritz Tedesko.

(Aus der I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 24. Januar 1909.)

Während der Drucklegung der II. Mitteilung „über die Lehre von der Säurevergiftung" erschienen in rascher Aufeinanderfolge zwei kurze Notizen — die eine von Pohl und Münzer (1) und die andere von A. Löwy (2). Die erstere bringt Befunde, die wesentlich von denen, die Eppinger (3) in seiner I. Mitteilung vertritt, abweichen und erscheint dadurch geeignet, die Schlüsse Eppingers als hinfällig hinzustellen. Die Arbeit Löwys bringt gleichsam eine Entschuldigung für den angeblichen Irrtum, dem Eppinger anheimgefallen sein soll. Auf seine Mitteilungen wurde nur in Randbemerkungen eingegangen (4). Aus äußeren Gründen konnten die damals begonnenen Untersuchungen nicht weiter fortgesetzt werden, weswegen auch eine Kritik der Arbeiten von Pohl-Münzer und Löwy unterblieb.

Bis zum Erscheinen der Arbeiten Eppingers bestand folgende Anschauung über das Wesen der Säurevergiftung: wenn man von den Untersuchungen Walters (5) ausgeht, so weiß man seit dieser bedeutenden Arbeit, daß es gelingt, Kaninchen nach Zufuhr von Mineralsäuren „säurezuvergiften". Als tödliche Dosis wurde von ihm 0,9 g HCl pro Kilogramm Kaninchen angegeben. Hunde, von denen stillschweigend angenommen wurde, daß sie Fleisch fressen, zeigen sich gegenüber dieser Dosis immun. Auch nach Darreichung selbst der doppelten

Dosis gelingt es nicht, eine Säurevergiftung zu erzielen. Als wichtige Veränderung findet Walter bei Kaninchen, daß der Kohlensäuregehalt des Blutes vor dem Zugrundegehen des Tieres von einem durchschnittlichen (normalen) Niveau (32% CO_2) auf zwei und noch weniger Volumprozente herabsinkt. Als eigentliche Todesursache wird eine sog. „innere Erstickung" beschuldigt. In dem Maße, als die Basen des Blutes durch Säureradikale gebunden werden, ist das zirkulierende Blut nicht mehr imstande, die in den Zellen des Organismus gebildete Kohlensäure abzunehmen. Es scheinen dadurch auch dem Sauerstoff die geeigneten Angriffsstellen für den geregelten Ablauf der Oxydationen zu fehlen, weswegen die Zellen in sich ersticken müssen — innere Erstickung.

Diese Theorie läßt sich durch weitere Experimente stützen. Walter fand nämlich, daß es gelingt, schon auf der Höhe der Vergiftung sich befindende Tiere noch zu retten, wenn ihnen Sodalösung intravenös verabreicht wurde. Außerdem ließ sich der Beweis erbringen, daß Kaninchen bei Säurevergiftung viel an fixen Alkalien durch den Harn verlieren.

Beim Hunde findet das Gift scheinbar keine geeigneten Angriffspunkte. Dies beweist sowohl das relative Wohlbefinden des Tieres als auch die fehlenden Veränderungen im Blute als auch im Harn. Wenigstens sinkt der Kohlensäurewert im Blute nur um wenige Prozente, und andererseits ist kein beträchtliches Ansteigen der fixen Harnalkalien zu verzeichnen. Als Ursache der hohen Toleranz der Hunde gegenüber jeglicher Säurevergiftung wird das Vermögen des Hundes, sehr hohe Ammoniakwerte flüssig zu machen, angenommen. In ihr sieht Walter das den Hunden spezifisch zukommende Schutzmittel gegenüber jeglicher Säurevergiftung an. Weil Ammoniak, als Produkt einer in fast unbegrenzten Mengen möglichen Eiweißzersetzung, zur Neutralisation aller sauren Körper verwendet werden kann, erscheint der Hundeorganismus gleichsam säurefest. In dieser, scheinbar nur dem Hunde zukommenden Eigentümlichkeit sieht Walter den prinzipiellen Unterschied zwischen beiden Tierklassen; dieser scharfe Kontrast wurde jedoch durch die Untersuchungen Winterbergs (6) etwas gemildert; er konnte nämlich zeigen, daß im Prinzip gar kein so großer Unterschied zwischen dem Stoffwechsel von Kaninchen und

Hund nach Säurevergiftung besteht, indem auch Kaninchen nach Säuredarreichung mit relativ hohen Ammoniakwerten antworten können. Wenn auch dieselben gegenüber den hohen Ammoniakzahlen, die beim Hunde gefunden wurden, weit zurückstehen, so war dadurch doch der tiefe einschneidende Unterschied gleichsam überbrückt. Limbeck übertrug die Untersuchungen Walters auf die menschliche Pathologie; er konnte zeigen, daß die Verhältnisse denen beim Menschen ähnlich sind. Auf die umfangreiche Literatur, die diese Fragen auf die Auffassung von der Lehre des Coma diabeticorum genommen haben, soll hier nicht eingegangen werden.

Kurz zusammengefaßt läßt sich also sagen, daß bei Tieren, die reichlich Eiweiß genießen, wie der Hund, Säurezufuhr keinen Schaden ausübt, im Gegensatz zum Kaninchen, das unter gewöhnlichen Verhältnissen nur sehr wenig Eiweiß als Nahrung bekommt. Dieser Unterschied der Tierarten wurde als gegebene Tatsache hingenommen, dabei aber auf die Nahrung der Tiere gar kein Gewicht gelegt.

Es war daher unter diesen Umständen naheliegend, zu prüfen, ob nicht die Nahrung das Wesentliche ist, d. h. ob nicht auch der Kaninchenorganismus bei Zufuhr von mehr Eiweiß geschützt wird gegen eine für ihn sonst tödliche Säuredosis, und umgekehrt, ob nicht ein Fleischfresser durch Entziehung der Eiweißkost seines Schutzmittels gegen Mineralsäuren beraubt ist.

Für diese Annahme wurden von Eppinger gewichtige Beweise erbracht. Er konnte zeigen, daß Kaninchen, die neben Grünfutter, subcutan Glykokoll oder andere Aminosäure bekommen, die sonst tödliche Säuredosis leicht vertragen. Auf Grund des stark gesteigerten Ammoniakexports wurde geschlossen, daß die eingeführten Körper eine Quelle für den gesteigerten Ammoniakexport abgeben können, so daß in dieser Weise die Säuren neutralisiert werden können. Andere N-haltige Substanzen, die im Organismus kaum eine Rolle spielen dürften — wie z. B. Säureamide —, waren nicht imstande, die Säurevergiftung zu beheben, was auch daran zu erkennen war, daß sie nicht zu einer vermehrten Ammoniakausscheidung Anlaß gaben. Schließlich wurde auch noch der wichtige Beweis erbracht, daß auch Eiweißfütterung ein Kaninchen säurefest machen kann. Auch hier wurde eine starke Ammoniakvermehrung im Harne

beobachtet. Umgekehrt wurde auch gezeigt, wie wenig resistent gegen Säure ein Hund ist, wenn man ihm im hungernden Zustande Säure gibt. Schon verhältnismäßig geringe Mengen genügen, um ihm ein Säurekoma beizubringen. Durch diese Versuche zeigte sich der vermeintliche Unterschied im Stoffwechsel der Fleisch- und Pflanzenfresser nur als ein scheinbarer. Er dürfte fast nur von der Nahrung abhängig sein und ist eigentlich am besten durch den Namen dieser Tiere — Fleisch- und Pflanzenfresser — bereits gekennzeichnet.

Gegen diese Experimente wurden nun von Pohl und Münzer Einwände erhoben. Von diesen Autoren wurde bereits in einer früheren Arbeit darauf hingewiesen, wie enorm giftig für Kaninchen Ammoniaksalze sind; wegen dieser Annahme erschien es Pohl und Münzer a priori als unwahrscheinlich, daß bei Kaninchen die Säurevergiftung durch Substanzen, die in Form von Ammoniaksalzen neutralisieren sollen, aufgehalten werden kann. Sie haben die Versuche von Eppinger nachgeprüft und sich nicht von der Richtigkeit derselben überzeugen können. Bereits in der zweiten Arbeit von Eppinger wurde (in einer Fußnote) gegen die Versuche von Pohl und Münzer Stellung genommen; insbesondere wurde darauf hingewiesen, daß die von den beiden Autoren angewandten Säuredosen viel zu groß waren. Die Säuremenge ist aber von außerordentlicher Wichtigkeit, nachdem von Eppinger in seinen Arbeiten angegeben wurde, daß Aminosäuren eben noch die tödliche Säuredosis neutralisieren können, nicht aber höhere Dosen. Weiterhin muß der Begriff „tödliche Säuredosis" berücksichtigt werden. Von Walter wurde 0,9 g HCl pro Kilogramm Tier angegeben. Wir haben neuerdings Gelegenheit gehabt, diese Menge als vollkommen ausreichende Dosis anzusehen. Wenigstens sind 10 Kaninchen nach der ursprünglichen Säuremenge prompt an Säurekoma zugrunde gegangen. Löwy bekrittelt diese Dosis. Wir glauben diese Differenzen nur auf verschiedene Nahrungsverhältnisse zurückführen zu müssen. Wir haben dafür mehrmals Beweise in Händen gehabt: so zeigen sich die Tiere, die mit Hafer gefüttert werden, viel resistenter als Tiere mit Grünfutterkost.

Wir haben uns entschlossen, die Versuche, die der eine von uns vor 3 Jahren vollendet hatte, neuerdings aufzunehmen,

und zwar hauptsächlich aus folgendem Grunde: die wichtigste Tatsache, die sich aus den Versuchen Eppingers ergab, war die Feststellung, daß die Nahrungsbedingungen für die Säureimmunität allein ausschlaggebend seien. Um diese Tatsache neuerdings zu festigen, haben wir uns zu folgenden Versuchen entschlossen.

Tabelle I.

Datum	Menge	N	NH_3	$\frac{N}{(NH_3)N}$	NaCl	HCl	KCl + NaCl	
18./XI. 7^{30}-7^{10}	250	6,002	0,52		2,90			Hund be-
7^{10}-7^{30}	250	3,525	0,27		1,10			kommt täg-
		9,527	0,79	16,0	4,00	2,4	4,16	lich 250 g
9./XI. 7^{30}-5^{50}	250	7,18	0,593		0,73			Fleisch.
5^{50}-7^{30}	250	8,12	0,600		0,77			
		15,30	1,193	12,5	1,50	0,9	3,755	
10./XI. 7^{30}-5^{50}	250	6,08	0,553		0,23			
5^{50}-7^{30}	250	7,44	0,641		0,27			
		13,52	1,194	14,0	0,50	0,3	3,405	
11./XI. 7^{30}-5^{50}	250	7,10	0,52		0,19			
5^{50}-7^{30}	250	7,67	0,57		0,20			
		14,77	1,09	17,8	0,39	0,234	4,222	
12./XI. 7^{30}-6^{00}	300	9,66	0,87		0,50			
6^{00}-7^{30}	250	5,90	0,30		0,34			
		15,56	1,17	12,0	0,84	0,54	3,034	
13./XI. 7^{30}-5^{50}	500	8,19	1,254		4,02			Gewicht des
5^{50}-7^{30}	600	6,43	1,96		4,34			Tieres 10,1 kg.
		14,62	3,214	5,6	0,84	5,016	8,965	Tier bekommt
14./XI. 7^{30}-5^{50}	500	8,53	1,02		3,02			von 7 Uhr früh
5^{50}-7^{30}	300	6,05	0,48		0,98			(13./XI.) bis
		14,58	1,50	12,0	4,80	2,88	5,825	7 Uhr früh (14./XI.)
15./XI. 7^{30}-6^{00}	250	7,70	0,445		1,18			9,30 g HCl.
6^{00}-7^{30}	250	8,52	0,481		0,82			
		16,22	0,926	22,0	2,00	1,80	2,19	
16./XI. 7^{30}-5^{50}	250	7,99	0,48		0,73			
5^{50}-7^{30}	250	5,16	0,37		0,57			
		13,15	0,85	19,0	1,30	0,78	2,434	

Eppinger konnte zeigen, daß ein Hund, der nichts zu fressen bekommt, sich anläßlich einer Säurevergiftung ebenso verhält, wie ein Pflanzenfresser. Ein Hund findet seinen Schutz

gegen Säuren bloß im Stickstoff der Nahrung. Diese Behauptung wurden erschlossen aus Versuchen an Hungerhunden. Immerhin war noch dem Einwande zu begegnen, ob nicht der Hungerzustand in der Insuffizienz des Hundeorganismus gegen Säuren eine Rollen spielen könnte. Wir haben diese Frage zu klären versucht an Hunden, die ausschließlich mit Kohlehydraten und Fett gefüttert wurden. Dadurch konnte der Hungerzustand ausgeschaltet werden, ohne daß große Stickstoffmengen in Umsatz kamen. Wir möchten zuerst einen Versuch vorlegen, der uns die Wirkungen von 0,9 g Salzsäure pro Kilogramm Hund bei Eiweißkost veranschaulichen soll.

Tabelle II.

Datum	Menge	N	NH_3	$\frac{(NH_3)N}{N}$	NaCl	HCl	KCl + NaCl	
23./XI. 7^{00}-5^{50}	250	1,77	0,44		1,73	1,04		
5^{50}-7^{50}	250	1,6	0,346		1,32	0,79		
		3,37	0,786	9,2	3,05	1,83	2,032	
24./XI. 7^{50}-5^{50}	250	1,82	0,32		1,50	0,9		
5^{50}-7^{50}	250	1,329	0,245		0,65	0,39		
		3,149	0,565	9,2	2,15	1,29	2,226	
25./XI. 7^{50}-5^{50}	250	1,03	0,23		1,28	0,768		
5^{50}-7^{50}	250	0,87	0,194		0,40	0,24		
		1,90	0,424	7,8	1,68	1,008	1,945	
26./XI. 7^{50}-5^{30}	250	1,038	0,149		0,50	0,30		
5^{30}-7^{00}	250	0,935	0,075		0,025	0,015		
		1,973	0,224	15,0	0,525	0,315	2,02	
27./XI. 7^{00}-9^{00}	200	0,476	0,102	7,8	0,80	0,48	1,454	Gewicht des Tieres 9,8 kg. In der Zeit v. 7 Uhr früh (27./XI.) bis 7 Uhr früh (28./XI.) soll er die tödliche Dosis: 10,0 g HCl i. e. 0,9 HCl p. kg bekommen. Exitus bereits um 6 Uhr abends im Säurekoma.
9^{00}-12^{00}	200	0,364	0,034		1,88	0,113	1,14	
12^{00}-3^{00}	200	0,273	0,051		1,12	0,67	2,11	
3^{00}-6^{00}	200	0,504	0,051		1,32	0,79	2,65	
		1,617	0,238		5,12	2,053	7,354	

Dem klaren Versuche ist wenig hinzufügen. Dasselbe Tier, dem der ganze Eingriff weder an seiner Freßlust, noch auch Gewicht etwas geschadet hatte, wird 10 Tage nach der letzten Säuredosis wieder in Versuch genommen. Diesmal bekommt das Tier nur Kohlehydrate und Fett in beliebiger Menge zu fressen (7). Es kommt sogar zu einer leichten N-Sparung;

jedenfalls sind die N-Werte, die durch den Harn ausgeschieden werden, sehr klein. Unter diesen Bedingungen bekam das Tier Säure, und zwar war beabsichtigt, dieselbe Säuremenge zu geben, wie im ersten Versuche. Das Tier ging aber viel früher zugrunde. Die Analysen des Harns sind in Tabelle II (S. 212) angegeben.

Durch diese einwandfreien Versuche finden wir die ursprünglichen Ansichten, die der eine von uns für die Lehre von der Säurevergiftung vorgebracht hatte, neuerdings bestätigt. Nur aus dem zirkulierenden, momentan aus der Nahrung stammenden N, dem labilen Eiweiß, kann Ammoniak verflüssigt werden; fixes Organeiweiß scheint für den Lebensprozeß viel zu wichtig, so daß der Organismus, selbst in Gefahr seiner weiteren Existenz, lieber zu den Alkalibeständen des Blutes greift, als zu den fixen Stickstofflagern.

Die gegenteiligen Versuche, nämlich am Pflanzenfresser, wollten wir nicht abermals am Kaninchen fortführen. Wir wählten dazu lieber größere Tiere, nämlich Schafe. Zuerst wurde die tödliche Dosis bei diesem Pflanzenfresser ermittelt. Es zeigte sich dabei, daß, ähnlich wie beim Kaninchen 0,9 g HCl pro Kilogramm vollkommen genügten, um ein Säurekoma zu provozieren.

Tabelle III.

Datum	Menge	N	NH_3	$\frac{N}{(NH_3)N}$	NaCl	HCl	$\frac{HCl}{NH_3}$	
11./XI. - 12 Uhr	200 I.	2,186	0,102	22,4	2,2	1,364	1,3	Kohlehydrat-fütterung
12./XI. - 12 Uhr	600 II.	7,14	0,390	22,8	3,9	2,232	5,7	
13./XI. - 12 Uhr	1400 III.	5,686	0,294	25,0	2,24	1,389	4,7	
14./XI. - 12 Uhr	700 IV.	5,978	0,302	24,7	1,95	1,209	4,0	
15./XI. - 12 Uhr	300 V.	5,796	0,296	24,0	1,54	0,955	3,3	
16./XI. - 12 Uhr	400 VI.	5,656	0,268	26,4	1,50	0,93	3,4	
								Gewicht 18 kg
17./XI. - 7 Uhr fr.	600 VII.	3,78	0,326	14,4	0,812	0,503	1,5	Das Tier bekommt 12 Uhr mitt. (17./XI.) bis zum andern Tag in ca. 4 stünd. Intervallen 16,5 g HCl. Bevor die letzten Dosen gereicht werden, geht das Tier [um 8 Uhr fr. (18./XI.)] im Säurekoma zugrunde.
- 12 Uhr	150 VIII.	0,325	0,078	5,2	0,54	0,335	2,2	
- 3 Uhr	500 IX.	1,13	0,128	11,0	4,24	2,633	20,1	
- 4 Uhr	200 X.	0,42	0,058	9,0	1,62	1,004	18,0	
- 5 Uhr	200 XI.	0,392	0,102	4,7	1,68	1,042	10,4	
- 6 Uhr	200 XII.	0,308	0,037	10,0	1,24	0,769	21,3	
- 7 Uhr	100 XIII.	0,154	0,027	7,0	0,87	0,539	20,0	
31 Stunden	VII.-XIII.	6,509	0,756	10,7	11,012	6,925	9,1	

Zwei weitere Schafe wurden nun durch mehrere Tage mit Plasmon gefüttert. Daneben bekamen sie gewöhnliche Kost (Rüben und Brot). Das Plasmon wurde täglich, in der Menge von 120 g in Wasser gelöst, mit der Schlundsonde eingeflößt. Der N-Wert steigt bald auf das Dreifache des normalen. In dieser Zeit wurde Säure gereicht. Die näheren Details zeigt die Tabelle IV.

Tabelle IV.

Datum	Menge	N	NH_3	$\frac{N}{N(NH_3)}$	NaCl	HCl	$\frac{HCl}{NH_3}$	
11./XI. - 12 Uhr	400 I.	4,73	0,309	19	5,44	1,37	4,4	Kohlehydratfütterung
12./XI. - 12 Uhr	250 II.	4,73	0,277	20	1,475	0,918	3,3	
13./XI. - 12 Uhr	200 III.	2,99	0,180	21	1,14	0,707	3,9	
14./XI. - 12 Uhr	400 V.	4,76	0,284	20,7	1,25	0,973	3,4	
15./XI. - 12 Uhr	500 V.	6,58	0,552	15	1,35	1,237	2,2	idem + 60 g Plasmon
16./XI. - 12 Uhr	1000 VI.	10,36	0,782	16	2,6	1,61	2,0	120 g Plasmon täglich
17./XI. - 12 Uhr	2000 VII.	12,04	1,496	10	3,32	2,06	1,3	
18./XI. - 12 Uhr	1300 VIII.	12,19	1,516	12	2,72	1,69	1,1	
19./XI. - 12 Uhr	1400 IX.	12,35	1,248	12	2,64	1,64	1,3	
20./XI. - 3 Uhr	150 X.	1,05	0,096	12	0,175	0,108	1,09	Das Tier (16 kg) bekommt 15 g HCl im Laufe von 24 Stunden, von 12 Uhr mittags (19./XI.) bis 12 Uhr mittags (20./XI.). Das Tier frißt während dieser Periode sein gewöhnliches Futter. Außerdem bekam das Tier 120 g Plasmon, ebenso an dem folgenden Tage.
- 6 Uhr	100 XI.	0,90	0,104	10,7	0,362	0,224	2,1	
- 9 Uhr	700 XII.	3,24	0,77	5,0	4,06	2,52	3,2	
- 7 Uhr	1100 XIII.	5,85	3,27	2,2	6,82	4,23	1,28	
- 11 Uhr	200 XIV.	1,19	0,478	3,0	1,24	0,77	1,6	
Summe	X.-XIV.	12,23	4,718	3,2	12,657	7,852	1,7	
21./XI. - 3 Uhr	250 XV.	1,42	0,37	4,7	1,50	0,93	2,5	
- 7 Uhr	400 XVI.	1,76	0,41	5,3	2,96	1,84	4,4	
- 7 Uhr	1200 XVII.	5,96	1,836	3,9	9,72	6,03	3,3	
- 12 Uhr	200 XVIII.	2,14	0,655	4,0	3,52	2,18	3,3	
Summe	XV.-XVIII.	11,28	3,271	4,3	17,70	10,98	3,3	
22./XI. - 12 Uhr	1500 - XIX.	11,865	2,03	7,4	4,5	2,79	1,3	

Die Zahlen sind so beweisend, daß eine nähere Erklärung gar nicht notwendig erscheint.

Leider sind uns Versuche mit Aminosäuren mißglückt. Aminosäuren, bei Schafen gegeben, erzeugen bereits krampfartige Zustände, in deren weiterem Verlauf die Tiere zugrunde gehen. Meist erfolgt der Exitus bald nach Darreichung, so daß wir nicht einmal den vorübergehenden Einfluß auf die Ammoniakausfuhr studieren konnten.

Wir könnten noch Belege erbringen für den Einfluß von Harnstoff auf die Säurevergiftung. Wir kommen zu denselben Resultaten, wie schon früher Eppinger, d. h. auch Harnstoff ist imstande, eine Steigerung der Ammoniakausscheidung herbeizuführen, im Gegensatz zu Säureamiden, die weder die tödliche Dosis paralysieren können, noch Anlaß zu gesteigerter Ammoniakurie geben. Auf eine eingehendere Besprechung verzichteten wir und lassen nur die Tabellen V und VI folgen.

Tabelle V.

Datum	Menge	N	NH_3	$\frac{N}{(NH_3)N}$	NaCl	HCl	
4./XII. 12 Uhr - 5./XII. 12 Uhr	300	3,78	0,290	16,8	2,7	1,62	Grünfutter u. Rübenkost
5./XII. 12 Uhr - 6./XII. 12 Uhr	250	3,50	0,236	18	1,64	0,98	"
6./XII. 12 Uhr - 7./XII. 12 Uhr	350	4,557	0,302	18	1,61	0,97	"
7./XII. 12 Uhr - 8./XII. 12 Uhr	900	6,048	0,360	21	0,927	0,556	"
8./XII. 12 Uhr - 9./XII. 12 Uhr	800	14,672	0,684	27	3,24	1,94	idem + 30 g Harnstoff, ebenso an den folgenden Tagen
9./XII. 12 Uhr - 10./XII. 10 Uhr fr.	400	10,248	0,436	29	1,84	1,104	Gewicht des Tieres 17,5 kg. Bekommt im Laufe von 24 Stunden 16 g HCl. Keinerlei Zeichen von Vergiftung.
10./XII. 10 Uhr - 11./XII. 7 Uhr fr.	1200	9,072	1,665	6,7	9,62	5,77	
11./XII. 7 Uhr - 12./XII. 12 Uhr	700	8,330	0,914	11,4	9,45	5,47	
12./XII. 12 Uhr - 13./XII. 12 Uhr	500	3,78	0,76	6,2	3,2	1,92	
13./XII. 12 Uhr - 14./XII. 12 Uhr	500	4,97	0,765	8,9	3,25	1,95	

Wir kommen somit zu denselben Resultaten, wie wir sie in der II. Mitteilung bereits präzisiert haben. Wir sehen uns nicht gezwungen, einen prinzipiellen Unterschied zwischen Fleisch- und Pflanzenfresser anzunehmen; denn sowohl der Hund, wenn er keine Eiweißkost bekommt, ist leicht säurezuvergiften, als auch das Schaf ist säurefest, wenn es Eiweiß zu fressen bekommt.

Tabelle VI.

Datum	Menge	N	NH_3	$\frac{N}{(NH_3)N}$	NaCl	HCl	
12./XII. 12 Uhr - 13./XII. 12 Uhr	400	3,696	0,22	21	0,48	0,288	Grünfutter und Rübenkost
13./XII. 12 Uhr - 14./XII. 12 Uhr	400	4,144	0,28	18,5	0,64	0,384	"
14./XII. 12 Uhr - 15./XII. 5^{30} p. m. -	800	6,08	0,42	18,1	0,80	0,48	"
15./XII. 5^{30} p. m. 16./XII. 12 Uhr	250	3,535	0,278	16	0,75	0,45	"
16./XII. 12 Uhr - 17./XII. 7 Uhr früh	1200	7,769	0,818	11,8	5,04	3,024	"
17./XII. 7 Uhr früh - 1 Uhr p. m.	800	2,924	0,458	7,8	3,44	2,064	Gewicht des Tieres 19 kg, soll im Laufe von 24 Std. 17,1 g HCl bekommen. Bereits 20 Stunden nach der ersten Dosis Exitus.

Literatur.

1. Pohl u. Münzer, Centralbl. f. Physiol. 20, Nr. 7.
2. Löwy, Centralbl. f. Physiol. 20, Nr. 10.
3. Eppinger, Wiener klin. Wochenschr. 1906, Nr. 5.
4. Eppinger, Zeitschr. f. experim. Pathol. 3, 530.
5. Walter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 7, 148.
6. Winterberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 152.
7. Limbeck, Zeitschr. f. klin. Med. 34, 419.
8. Pohl u. Münzer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43, 28.

Über die Beziehungen zwischen der Menge des Magensaftes und seinem Pepsingehalt.

Von

T. Kudo, Kioto.

(Aus der experim.-biolog. Abteilung des kgl. Patholog. Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1909.)

Der Einfluß der chlorarmen Kost auf die Magensekretion ist schon vielfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Wenn wir von älteren Arbeiten absehen, so war es Cahn[1]) der zuerst feststellte, daß zwischen der Sekretion des Magensaftes und dem Chlorgehalt des Organismus nahe Beziehungen bestehen. Er brachte ein bestimmtes Quantum chlorfreien Fleischpulvers in den Magen eines normal ernährten Hundes und fand in dem ausgeheberten Mageninhalt freie Salzsäure. War das Tier zuvor chlorfrei ernährt, so nahm auch die freie Salzsäure allmählich ab. Nach ihm gab die Menge resp. der Mangel der Salzsäure im Mageninhalt geradezu den Grad der Chlorverarmung des Organismus an. — Zu einem ähnlichen Resultat kam Pawlow[2]), der an einem Hund mit Oesophagus- und Magenfistel arbeitete. Er konstatierte, daß nach der Scheinfütterung in den ersten Tagen der Chlorentziehung noch die Sekretion eine normale war, daß sie aber schließlich am 5. Tage vollkommen versiegte. — Wohlgemuth[3]) untersuchte die Verhältnisse eingehend an Hunden mit „kleinem Magen", da

[1]) Cahn, Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 522.

[2]) Pawlow, Malys Jahresber. 1904.

[3]) Wohlgemuth, Arbeiten aus dem Pathologischen Institut zu Berlin, 1906.

a priori nicht ausgeschlossen war, daß wenn die Speisen direkt in den Magen gelangen, der Reiz dort ein viel größerer ist, als der durch Scheinfütterung ausgelöste. Auch bei dieser Versuchsanordnung zeigte sich, daß die Saftsekretion unter dem Einfluß der Chlorverarmung des Organismus fast vollkommen versiegt und statt dessen vorwiegend Schleim sezerniert wird. Nach Zufuhr von Kochsalz setzte sofort eine reichliche Sekretion ein und der Magensaft zeigte wieder normale Werte.

Was nun den Pepsingehalt des unter dem Einfluß chlorarmer Kost abgesonderten Magensaftes anbetrifft, so hatten die beiden erstgenannten Autoren festgestellt, daß je geringer die Menge des Magensaftes war, um so reicher sein Pepsingehalt wurde.

Speziell der letztere Punkt, das Verhalten des Pepsins bei ständig abnehmender Saftsekretion, schien mir wichtig genug, an einem chlorfrei ernährten Hund „mit kleinem Magen" genau zu verfolgen.

Zur Verwendung kam ein kräftiger Hund, dem nach Pawlow ein Magenblindsack angelegt war, und der sich vollkommen wohl befand. Das Tier erhielt während der ersten drei Tage nüchtern 250 g gehacktes Pferdefleisch. Danach wurde jedesmal drei Stunden lang der aus dem „kleinen Magen" fließende Saft gemessen, sein Säuregehalt und seine Pepsinmenge bestimmt. Vom vierten Tage ab bekam der Hund 250 g chlorfreies Fleisch, dem durch langes Auskochen mit Wasser und Auspressen das Chlor entzogen war. Die chlorfreie Ernährung wurde auf weitere vier Tage ausgedehnt und mit dem nach jeder Fütterung gewonnenen Magensaft bezüglich seines Säure- und Fermentgehaltes in der gleichen Weise verfahren. Am achten Tage wurde der Hund wieder mit kochsalzreichem Fleisch ernährt und die nämlichen Bestimmungen im Magensaft vorgenommen. — Die freie HCl wurde gegen Dimethylamidoazobenzol, die gebundene gegen Phenolphthalein titriert. — Die quantitative Bestimmung des Pepsins geschah nach der bekannten Fuldschen Methode.[1])

Das Resultat meiner Untersuchungen veranschaulicht folgende Tabelle.

---

[1]) Diese Zeitschr. 6, 473.

Versuchstag	Menge des Fleisches	Menge des		Acidität		Pepsinmenge für 1 ccm	Pepsinmenge des gesamten Magensaftes
		Magensaftes ccm	Schleimes ccm	freie HCl	Gesamtacidit.		
1.	250 g NaCl-haltiges Fl.	40	4	65	80	80	3200
2.	250 g „ „	43	5	55	70	80	3440
3.	250 g „ „	38	4	110	120	125	4750
4.	250 g NaCl-freies Fl.	2	4	0	15	800	1600
5.	250 g „ „	14	5	10	25	312	4312
6.	250 g „ „	13	10	0	12	312	4056
7.	250 g „ „	9	13	0	10	312	2808
8.	250 g NaCl-haltiges Fl.	21	4	72	82	200	4200
9.	250 g „ „	48	4	110	120	80	3840
10.	250 g „ „	73	5	115	122	50	3750

Aus ihr geht in Übereinstimmung mit den Resultaten von Wohlgemuth zunächst hervor, daß mit Kochsalzverarmung die Saftsekretion stetig abnimmt, bei Kochsalzzufuhr aber sofort wieder in normalem Umfange vor sich geht. Mit Abnahme der Saftmenge stieg die Menge des Schleimes, so daß an den letzten beiden chlorfreien Tagen fast genau so viel Schleim wie Saft abgesondert wurde. — Ferner ließ sich feststellen, daß mit Kochsalzentziehung sofort die freie Salzsäure aus dem Magen fast vollkommen resp. gänzlich verschwand, und daß in dem Verhältnis wie die freie Salzsäure abnahm, auch die Werte für die Gesamtacidität zurückgingen, denn es war ja auch eine reichlichere Gelegenheit für die Schleimneutralisation des Saftes gegeben.

Was endlich die Pepsinmengen anbetrifft, so ergibt sich, daß im Vergleich zu den drei ersten Tagen des Versuches während der Kochsalzentziehung die Fermentmengen ganz gewaltig anstiegen. So enthielt beispielsweise der Magensaft vom ersten chlorfreien Tag in 1 ccm zehnmal so viel Fermenteinheiten als am ersten Tage des Vorversuches. Auch an den übrigen chlorfreien Tagen war die Pepsinkonzentration eine weit höhere als zu den normalen Zeiten. Betrachten wir nun die in der letzten Kolumne angefürhten absoluten Fermentmengen, so ergibt sich, daß die Zahl der Fermenteinheiten durchgehends fast konstant geblieben war. Das würde heißen, daß von den Magendrüsen um so mehr Pepsin abgesondert wird, je ge-

ringer die Saftmenge ist, und daß umgekehrt um so weniger Ferment im Saft sich findet, je größer sein abgeschiedenes Quantum ist. Diese Gesetzmäßigkeit zwischen Saftmenge und Pepsingehalt dürfte indes nur für die gesunde Magenschleimhaut zutreffen. Wie sich dagegen die durch Entzündungen oder sonstige Ursachen geschädigte Magenschleimhaut in diesem Punkte verhält, darüber können erst weitere Untersuchungen bei entsprechenden Magenerkrankungen Aufschluß geben.

Beitrag zur Kenntnis des Schicksals der Hefe im Tierkörper.

Von

T. Kudo.

(Aus der experim.-biolog. Abteilung des kgl. Patholog. Instituts der Universität Berlin.)

(*Eingegangen am 23. Januar 1909.*)

In den letzten Jahren hat bekanntlich die Hefetherapie bei den verschiedensten Krankheiten in mehr oder weniger ausgedehntem Maße Anwendung gefunden. In das Bereich dieser Therapie sind vor allem gewisse Infektionskrankheiten, wie Furunklose [Fink (1), Mosse (2)], Scharlach, Masern, Typhus usw. [Heer (3)], ferner Hautkrankheiten [Brocq (4), Bolognesi (5) u. a.], Stoffwechselkrankheiten [Neumann (6), Fink, Bierkowski (7) usw.], Magen-, Darmstörungen [Günzburg (8), Quinke (6), Roos (10), Roos und Hinsberg (11)] u. dergl. m. einbezogen worden, auch in die Gynäkologie hat die Hefetherapie sich Eingang verschafft [Landau (12), Albrecht (13)], und endlich ist die Herstellung eines Serums [Deutschmannsches Serum (14)] von Tieren, die in geeigneter Weise mit Hefe vorbehandelt waren, gleichfalls auf die obengenannten therapeutischen Bestrebungen zurückzuführen. Trotz jener zahlreichen therapeutischen Anwendungen ist über die physiologische Wirkung der Hefe im normalen tierischen Organismus noch sehr wenig bekannt.

Es existieren ja allerdings schon vereinzelte Untersuchungen über das Schicksal, das die Hefe unter dem Einfluß der Pepsinverdauung erfährt; aber gleichviel schien es doch wünschenswert, auch diesen Gegenstand einer Nachprüfung zu unterziehen.

Denn gerade bei der intragastralen Hefezufuhr kommt die Hefe ja zunächst mit den Verdauungssäften des Magens in Berührung und kann hier bereits eingreifenden Veränderungen unterworfen sein. Es fragt sich nun, wie weit dieser peptische Verdauungsprozeß die in den Hefezellen eingeschlossenen wirksamen Bestandteile, die Fermente, zerstört, und dabei harrt das Problem auf Antwort, ob es überhaupt die in der Hefe vorhandenen Fermente, oder ob es nicht andere Stoffe sind, die eine therapeutische Wirkung bei den eben genannten Krankheiten hervorrufen, vorausgesetzt natürlich, daß die Heilerfolge bei der Hefetherapie einer objektiven Kritik gegenüber auf die Dauer Bestand haben.

Das Studium der Wirkung der Hefe auf den Tierkörper ist in der letzten Zeit im hiesigen Laboratorium von verschiedenen Seiten in Angriff genommen worden. Mir fiel die Aufgabe zu, das Schicksal des zuckervergärenden Hefefermentes im Verdauungskanal zu verfolgen und speziell zu untersuchen, ob durch Fütterung von Tieren mit Hefe etwa eine Steigerung der glykolytischen Kraft des Tierkörpers hervorgerufen werden kann.

Der erste Punkt wurde schon von Neumayer (15) eingehend untersucht. Er stellte fest, daß sämtliche Hefearten den ganzen Verdauungskanal des Menschen und der Tiere (Kaninchen und Katze) passieren können, ohne dabei ihr Gärungsvermögen vollständig zu verlieren. Es fand dabei nur eine teilweise Zerstörung der Hefe statt. Ferner konstatierten dieser Autor, sowie Falk (16), Gilkinet (17) u. a., daß die subcutane oder intravenöse Injektion der Hefe nicht schädlich wirkte, daß aber dabei die Hefezellen sehr bald durch die plasmatischen Säfte zersetzt werden.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich erstens frische Preßhefe und Bierhefe, zweitens zwei Hefepräparate, nämlich die von Krauth angegebenen Zymasoltabletten und endlich ein durch Trocknung und Zerkleinerung frischer Bierhefe gewonnenes Hefepulver „Faex“, von Barsickow hergestellt.

Als ich diese verschiedenen Präparate auf ihre Gärungsfähigkeit prüfte, stellte sich, was zu erwarten war, heraus, daß die frische Preß- und Bierhefe sofort eine starke Gärung zeigten, daß die Zymasoltabletten erst nach einiger Zeit und

unter bestimmten Reaktionsbedingungen den Zucker im Gärungsröhrchen stark angriffen, während endlich das trockne Hefepulver „Faex“ eine schwächere Gärungskraft erkennen ließ.

Da aber gerade dieses, wie ich von einem befreundeten Pädiater hörte, bei Verdauungsstörungen, Hautkrankheiten und Konstitutionsanomalien im Kindesalter mit Erfolg angewandt wird, so schien das schon bis zu einem gewissen Grade darauf hinzuweisen, daß das Gärungsferment der Hefe für diese therapeutischen Effekte nicht in Frage kommt.

Ich habe nun zunächst untersucht, und zwar ebensowohl in vitro, wie am Tier, welches Schicksal die vergärende Kraft der Hefe unter dem Eindruck der peptischen Wirkung erleidet.

I. Versuche in vitro.

Versuch 1 mit der frischen Preßhefe.

Versuchsanordnung: 20 ccm frischer Hundemagensaft (Acidität 88), welcher aus dem „kleinen Magen“ nach Pawlow gewonnen waren, wurden mit 2 g frischer Preßhefe gut durchgeschüttelt, davon je 5 ccm auf 4 Reagensgläsern verteilt und sämtliche Röhren in den Brutschrank gebracht. Die erste Portion wurde nach 1 Stunde, die zweite nach 2 Stunden, die dritte nach 3 Stunden und die vierte nach 4 Stunden aus dem Brutschrank entfernt, mit einigen Tropfen $^n/_n$-NaHO genau neutralisiert und sodann mit 5 ccm 10 $^0/_0$iger frischer Traubenzuckerlösung versetzt. Nun wurde jede Mischung in Gärungsröhrchen übertragen, mit einigen Tropfen Toluol versetzt, um die bakterielle Gärung zu verhüten, und im Brutschrank (37,5 bis 38^0 C) 24 Stunden lang stehen gelassen.

Dauer der vorangehenden Einwirkung des Magensaftes	Gärung		Kontrolle ohne Magensaft
	nach 3 Std. $^0/_0$	nach 24 Std. $^0/_0$	nach $^3/_4$ Std. $^0/_0$
1 Stunde	1	über 1	1
2 Stunden	0	0,82	
3 „	0	0,78	
4 „	0	0,59	

Wie man aus dieser Tabelle ersieht, wird die Gärungskraft der frischen Preßhefe schon nach einstündiger Einwirkung des Magensaftes beträchtlich gehemmt, während ein Kontrollversuch zeigt, daß bei sonst gleicher Versuchsanordnung — statt Magensaft ist Wasser genommen worden — die nämliche Hefenmenge ohne Vorbehandlung mit Magensaft schon nach $^3/_4$ Stunde $1\,^0/_0$ Glucose vergoren hat. Mit zunehmender Dauer der Einwirkung des Saftes wird die Gärungskraft immer stärker beeinträchtigt.

Versuch 2 mit Zymasoltabletten.

Gleiche Versuchsanordnung, nur wurden 1 resp. 2 Stück Tabletten mit 20 ccm Magensaft (Acidität 88) gut durchgeschüttelt und nach der Neutralisation mit $^n/_n$ NaHO jede Portion durch Zusatz von 0,03 ccm $^n/_n$ NaHO gleichmäßig schwach alkoholisch gemacht, weil die Tabletten in der den Magensaft enthaltenden Flüssigkeit bei neutraler Reaktion nur spurweise oder gar nicht, dagegen, wie wir weiter unten sehen werden, bei einer schwach alkalischen Reaktion am besten vergoren.

Dauer der vorangehenden Einwirkung des Magensaftes	Gärung nach 24 Stunden	
	mit 1 Tablette %	mit 2 Tabletten %
1 Stunde	0,44	0,75
2 Stunden	0,62	ca. 1,25
3 „	0,3	0,88
4 „	0,26	0,84
Kontrolle ohne Magensaft	0,45	0,88
Dieselbe ohne Alkalizusatz (neutral)	Spur	0,6

Aus diesen und analog angeordneten anderen Versuchen ergibt sich, daß das Gärungsferment durch die Wirkung des Magensaftes auf die gepulverten Tabletten zunächst in Freiheit gesetzt zu werden scheint. Denn nach vorher gegangener zweistündiger Digestion mit Magensaft im Brutschrank ist die Wirkung dieses Präparates am stärksten. Aber gleichzeitig mit dieser den Gärungsprozeß im gewissen Sinne begünstigenden Wirkung des Magensaftes geht der das Ferment schädigende Einfluß einher, der um so deutlicher hervortritt, je

länger der Magensaft einwirkt. Die Gärungsfähigkeit nur mit Wasser behandelter Hefetabletten war sowohl bei der alkalischen als auch bei der neutralen Reaktion schwächer, als das Gärungsvermögen von Tabletten, die 2 Stunden mit Magensaft digeriert worden waren.

Im Verlauf weiterer Untersuchungen stellte sich heraus, daß die Reaktion, bei der die verschiedenen Versuche angestellt wurden, nicht gleichgültig ist, was ja übrigens für die Hefewirkung auch schon bekannt war. Nur soweit diese Frage mein Thema berührt, will ich sie hier streifen. Folgende Versuche illustrieren die Bedeutung der Reaktion bei der Gärung.

Bedeutung der Reaktion bei der Gärung.

Versuch 3 mit der frischen Hefe.

Versuchsanordnung: 5 g Preßhefe wurde in 50 ccm Wasser geschwemmt, davon je 5 ccm auf Reagensgläsern verteilt und mit 5 ccm einer 10%igen Traubenzuckerlösung versetzt. Darauf folgte der Zusatz von Normalsalzsäure resp. Natronlauge in verschiedenen Mengen. Nun wurde jede Mischung in Gärungsröhrchen übertragen und im Brutschrank stehen gelassen.

Säurezusatz	Gärung nach		Alkalizusatz	Gärung nach	
	3/4 Std. %	24 Std. %		3/4 Std. %	2 Std. %
0,0	1	über 1	0,0	1	über 1
0,1 ccm n/10-HCl	0,83	„ 1	0,1 ccm n/10-NaHO	0,89	„ 1
0,3 „ „	0,63	„ 1	0,3 „ „	0,88	„ 1
0,5 „ „	0,47	„ 1	0,5 „ „	0,68	„ 1
0,1 „ n/n-HCl	0,2	„ 1	0,1 „ n/n-NaHO	0,3	0,9
0,15 „ „	0	0	0,15 „ „	0	0,52

Versuch 4 mit Zymasoltabletten.

Versuchsanordnung: 5 Stück Tabletten wurden mit 50 ccm destilliertem Wasser gut geschüttelt, ca. 1 Stunde lang im Zimmer stehen gelassen und mit n/n HCl genau neutralisiert, weil die Tabletten Alkali enthielten. Das weitere Verfahren wie oben.

Säurezusatz	Gärung nach 5 Std. %	Gärung nach 24 Std. %	Alkalizusatz	Gärung nach 5 Std. %	Gärung nach 24 Std. %
0,0	0	0,6	0,0	0	0,6
0,1 ccm $^n/_{10}$-HCl	0	ca. 1,3	0,1 ccm $^n/_n$-NaHO	0	ca. 1,08
0,3 „ „	0	1	0,3 „ „	0	„ 1,25
0,5 „ „	0	1	0,5 „ „	0	„ 1,06
0,1 „ $^n/_n$-HCl	0	0	0,1 „ „	0	1
0,15 „ „	0	0	0,15 „ „	0	0,5

Versuch 5 mit Hefepulver „Faex“.

Gleiche Versuchsanordnung wie bei dem Versuch 3, nur wurde statt frischer Hefe 3 g „Faex“, eine ca. 5 Stück Zymasoltabletten entsprechende Menge, genommen.

Säurezusatz	Gärung nach 5 Std. %	Gärung nach 24 Std. %	Alkalizusatz	Gärung nach 5 Std. %	Gärung nach 24 Std. %
0,0	0	0,46	0,0	0	0,46
0,1 ccm $^n/_{10}$-HCl	0	0,3	0,1 ccm $^n/_{10}$-HCl	0	0,31
0,3 „ „	0	0	0,3 „ „	0	0
0,5 „ „	0	0	0,5 „ „	0	0

Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, daß die gärende Kraft der frischen Hefe bei neutraler Reaktion am stärksten war, und zwar war schon nach $^3/_4$ Stunde 1% Traubenzucker vergoren. Sie wurde durch Zusatz von Säure resp. Alkali, und zwar mit der erhöhten Konzentration, immer stärker gehemmt. Dabei wirkte die Salzsäure stärker schädigend als die Natronlauge, so daß schon bei Zusatz von 0,15 ccm $^n/_n$-HCl die Gärungskraft der Hefe dauernd gehemmt wurde.

Die Zymasoltabletten griffen viel langsamer und viel schwächer den Zucker an, als die frische Hefe, so daß sie nach 5 Stunden noch gar nicht und während 24 Stunden erst 0,6% vergoren hatten. Ferner wirkten die Tabletten im Gegensatz zu der frischen Hefe bei saurer resp. alkalischer Reaktion stärker ein, als bei neutraler, und zwar am stärksten beim Zusatz von 0,3 $^n/_{10}$ NaHO. Diese Tatsache stimmt mit

der obenerwähnten Beziehung zwischen Magensaft und Tabletten überein und der Grund dafür kann vielleicht in ganz analoger Weise wie bei dem Magensaft erklärt werden. Mit der erhöhten Konzentration von Säure resp. Alkali wird ihr Gärungsvermögen ebenfalls geschädigt. Aus diesem Grunde wurden die schon mitgeteilten, wie auch die folgenden Versuche mit Tabletten bei einer schwach alkalischen Reaktion angestellt, soweit es nicht ausdrücklich anders vermerkt ist.

Endlich hatte das Hefepulver „Faex" im allgemeinen sehr geringe Gärungsfähigkeit, und die Spuren von Säure resp. Alkali wirkten auf dasselbe vorübergehend oder gar dauernd hemmend.

II. Tierversuche.

Im allgemeinen war die Versuchsanordnung derart, daß Hunde, die eine seitliche Fistel am absteigenden Aste des Duodenums nach der Pawlowschen Methode trugen, mit Hefe oder Hefepräparaten gefüttert wurden, und daß dann in bestimmten Intervallen der Duodenalinhalt auf sein Gärungsvermögen untersucht wurde.

Versuch 6 mit der frischen Hefe.

Versuchsanordnung: 10 g frische Hefe wurden in 100 ccm Wasser aufgeschwemmt und mittels Schlundsonde in den Magen eines nüchternen Hundes eingegossen. Nun wurden Proben des Darminhaltes nach 1, 2, 3 resp. 4 Stunden entnommen. Jedesmal wurden 5 ccm filtrierten Darminhaltes in ein Reagensglas abpipettiert, mit wenigen Tropfen $^{n}/_{n}$ NaHO genau neutralisiert und sodann der Gärungsversuch angestellt.

Hund A.

Zeit der Entnahme des Darminhaltes nach der Fütterung	Gärung nach 24 Stunden %
1 Stunde	0,65
2 Stunden	0,58
3 „	0,3
Darminhalt vor der Fütterung	0,54

Versuch 7. Wiederholung.

Hund B.

Zeit der Entnahme des Darminhaltes nach der Fütterung	Gärung nach 24 Stunden	
	mit filtriertem Darminhalt %	mit nicht filtriertem Darminhalt %
1 Stunde	0,82	ca. 1,25
2 Stunden	0,57	ca. 1,45
3 „	0,4	1
4 „	0,38	1
Darminhalt vor der Fütterung	0,28	0,5

Hieraus ersieht man, daß das Gärungsvermögen des Darminhaltes einige Stunden nach der Fütterung von 10 g frischer Hefe mehr oder weniger zugenommen hatte, und daß der nicht filtrierte Darminhalt natürlich eine viel stärkere Wirksamkeit zeigte als der filtrierte.

Versuch 8 mit Zymasoltabletten.

Gleiche Versuchsanordnung wie oben, nur statt frischer Hefe 20 Stück Tabletten + 100 ccm Wasser einem nüchternen Hunde eingegossen.

Hund A.

Zeit der Entnahme des Darminhaltes nach der Fütterung	Gärung nach 24 Stunden	
	mit filtriertem Darminhalt %	mit nicht filtriertem Darminhalt %
$1^1/_2$ Stunden	0,58	0,61
3 „	0,34	0,8
4 „	0,32	0,82
5 „	0,3	0,87
Darminhalt vor der Fütterung	0,35	0,61

Aus diesem Versuch geht hervor, daß das Gärungsvermögen des Darminhaltes sich durch die Fütterung von 20 Stück Tabletten etwas vermehrte, und daß diese Zunahme bei dem

nicht filtrierten Darminhalte einige Stunden nach der Fütterung ein wenig stärker war, sich aber immer in gewissen Grenzen hielt.

Versuch 9 mit Zymasoltabletten.

Versuchsanordnung: Hier wurde der Darminhalt zunächst nach dem Eingießen der Probekost (30 g Semmel + 300 ccm Wasser) und bald wiederum nach der Gabe der nämlichen Probekost + 9 Stück Tabletten entnommen. Die einzelnen Gärungsproben wurden nicht bei schwach alkalischer, sondern bei neutraler Reaktion ausgeführt.

Hund B.

Zeit der Entnahme des Darminhaltes nach der Fütterung	Gärung nach 24 Stunden	
	mit Probekost %	mit Probekost + Tabletten %
1 Stunde	0,58	0
2 Stunden	0,5	0,48
3 „	Spur	0,3
4 „	0	0

In diesem Versuch wurde keine Zunahme der Gärungsfähigkeit des Darminhaltes nachgewiesen.

Ebenso fiel ein entsprechend angestellter Versuch mit dem Hefepulver „Faex“ negativ aus.

Versuch 10 mit Faex.

Versuchsanordnung: Der nüchterne Hund wurde mit 5 g Faex + 100 ccm Wasser gefüttert.

Hund C.

Zeit der Entnahme des Darminhaltes	Gärung nach 24 Stunden
1 Stunde	kein Darminhalt
2 Stunden	1%
3 „	kein Darminhalt
4 „	„
Darminhalt vor der Fütterung ...	1%

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß die Fütterung von frischer Hefe oder Hefepräparaten in einer regelmäßigen und gesetzmäßigen Weise die Gärungsfähigkeit des Darminhaltes nicht steigert. Wohl sieht man, daß nach der Verfütterung von Hefe gelegentlich 1 bis 2 Stunden später (oder noch später) die Gärungskraft des Darminhaltes ein wenig zunimmt, aber die Zunahme ist so minimal, daß sie praktisch etwa für eine gesteigerte Zuckergärung im Darm bei der Ernährung kaum in Frage kommen dürfte.

Man konnte nun daran denken, daß, wenn auch nach Hefefütterung eine vermehrte Gärung im Darminhalt — etwa auf Grund ungünstiger Reaktionsbedingungen — nicht nachweisbar war, das Gärungsenzym resorbiert würde und auf diese Weise vielleicht eine gesteigerte glykolytische Kraft der Körpersäfte erzielt werden könnte. Daß auch diese Annahme nicht zutrifft, beweisen folgende Versuche:

Versuch 11.

Versuchsanordnung: 4 ungefähr gleich große Kaninchen wurden gleichmäßig ernährt. 2 Kaninchen erhielten 7 bis 10 Tage hindurch außerdem noch täglich 10 Stück Zymasol-Tabletten in 40 ccm Wasser. Ich tötete dann die Tiere durch Entbluten aus der Carotis und verglich die zuckervergärende Kraft des Blutserums und des durch die Buchnersche Presse gewonnenen Preßsaftes der gesamten Körpermuskulatur der mit Hefe gefütterten Tiere und der Kontrolltiere.

A. Kaninchen nach 7tägiger Fütterung.

Blutserum		Muskelpreßsaft	
Kontrolle	gefüttert	Kontrolle	gefüttert
0	0	über 1%	über 1%

B. Kaninchen nach 10tägiger Fütterung.

Defibriniertes Blut		Muskelpreßsaft		Leberpreßsaft	
Kontrolle	gefüttert	Kontrolle	gefüttert	Kontrolle	gefüttert
0	0	über 1%	über 1%	über 1%	über 1%

Bei den Gärungsversuchen verglich ich den Fortschritt der Gärung bei den einzelnen Proben von Zeit zu Zeit und fand, daß die Vergärung bei den Gewebspreßsäften erst nach 8 Stunden einsetzte und ohne Unterschied zwischen dem Kontroll- und dem gefütterten Tiere fortschritt, bis endlich nach 24 Stunden über 1% bei allen Proben vergoren war.

Zusammenfassung.

1. Bei den Versuchen in vitro wird die Gärungskraft von Hefe und Hefepräparaten durch Einwirkung des reinen Magensaftes, welcher dem „kleinen Magen" nach Pawlow entstammt, beträchtlich gehemmt. Diese Hemmung nimmt mit der Dauer der Einwirkung des Saftes zu.

2. Mit den Zymasoltabletten geht die Vergärung nach vorgegangener etwa 2stündiger Einwirkung des Magensaftes am stärksten vor sich. Der Grund dafür beruht vielleicht darin, daß das fest eingeschlossene Ferment durch Einwirkung des Magensaftes nach gewisser Zeit in Freiheit gesetzt wird.

3. Das Gärungsvermögen der untersuchten Hefepräparate ist im Vergleich zu dem der frischen Hefe schwächer.

4. Die Reaktion der Flüssigkeit hat einen großen Einfluß auf den Gärungsprozeß. Die frische Hefe wirkt am stärksten in neutraler, die Zymasoltabletten dagegen in schwach alkalischer Reaktion.

5. Hefe und Hefepräparate werden beim Passieren des Verdauungskanals des Tieres in ihrem Gärungsvermögen geschädigt.

6. Die Fütterung von Hefe und Hefepräparaten steigert die Gärungsfähigkeit des Darminhaltes nur wenig.

7. Diese Zunahme ist einige Stunden nach der Fütterung am deutlichsten.

8. Durch Fütterung von Hefe nimmt das Gärungsvermögen des Blutes und der Gewebspreßsäfte nicht zu.

Literatur.

1. Fink, Buchners Repert. 14.
2. Mosse, Lancet 1852.
3. Heer, Hefe bei Infektionskrankheiten.
4. Brocq, Presse médicale 8.
5. Bolognesi, Verhdl. der Société de Therapie 1900.
6. Neumann, Journ. der prakt. Heilk. v. Hufeland 1882.
7. Bierkowski, Med. Zeitschr. v. Verhdl. f. d. Heilk. in Preußen 1885.
8. Günzburg, Münch. med. Wochenschr. 1896.
9. Quinke, Verhdl. d. Congress. f. inn. Med. 1898.
10. Roos, Münch. med. Wochenschr. 1900, Nr. 43.
11. Roos und Hinsberg, Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 28.
12. Landau, Deutsche med. Wochenschr. 1899, Nr. 11.
13. Albrecht, Centralbl. f. Gynäk. 1901, Nr. 7.
14. Deutschmann, Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 19.
15. Neumeyer, Arch. f. Hygiene 12, 1 bis 60.
16. Falk, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1886, 25.
17. Gilkinet, Arch. de Méd. expér. 9, 881.

Über den Einfluß der Elektrizität auf die Fermente.

Von

T. Kudo.

(Aus der experim.-biolog. Abteilung des kgl. Patholog. Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1909.)

Während die Folgeerscheinungen der elektrischen Reizung der Drüsen oder ihrer Sekretionsnerven vielfach Gegenstand experimenteller Studien gewesen sind, liegt über die Frage, ob und in welcher Weise die Fermente selbst durch die verschiedenen Arten der Elektrizität beeinflußt werden können, bisher eigentlich kaum Untersuchungsmaterial vor. Und doch schien eine Prüfung dieses Gegenstandes sowohl vom theoretischen wie vom praktischen Standpunkte aus interessant; vom praktischen besonders deshalb, weil die moderne physikalische Therapie die Elektrizität in fast allen möglichen Anwendungsarten in ihr Bereich gezogen hat. Aus diesem Grunde war eine detaillierte Kenntnis der Wirkungen der verschiedenen Formen der Elektrizität auf die einzelnen Organfunktionen, speziell die Drüsen, wünschenswert.

Ich untersuchte den Einfluß der konstanten, faradischen und der Teslaströme auf die verschiedenen Verdauungsfermente, nämlich auf das Ptyalin, Pepsin und Trypsin.

Die Versuchsanordnung war im allgemeinen derart, daß ca. 10 ccm des betreffenden Verdauungssaftes in einem kleinen Glaszylinder, in dem sich die beiden platinierten Elektroden befanden, der Einwirkung des elektrischen Stromes ausgesetzt wurden. Der Zylinder stand in Eiswasser, um eine etwaige Temperaturerhöhung der Fermentlösung zu vermeiden. Der Versuch wurde gewöhnlich nach $^1/_4$ resp. 1 Stunde unterbrochen,

dann die Fermentstärke bestimmt und mit jener der nicht behandelten Fermentlösung verglichen.

I. Einfluß der Elektrizität auf das Ptyalin.

Versuch 1. Galvanischer Strom.

Zur Bestimmung des Ptyalins diente die Wohlgemuthsche Methode.[1]) Absteigende Mengen von Menschenspeichel wurden mit 5,0 ccm einer 1 $^0/_0$igen Stärkelösung versetzt, nach halbstündigem Stehenlassen im Brutschrank der Versuch unterbrochen und zu jedem mit Wasser verdünntem Gläschen ein Tropfen $^n/_{10}$-Jodlösung zugefügt. Wo die erste blaue Färbung auftrat, lag die untere Grenze der Wirkung. In dieser Weise wurde nativer Speichel und mit galvanischem Strom behandelter auf seinen Fermentgehalt untersucht. Verwendet wurde eine Stromstärke von 4 M.-A.

Fermentmenge	Nativer Speichel	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,2	+	+	+
0,13	+	+	+
0,08	+	+	Spur
0,05	+	+	—
0,03	+	+	—
0,02	+	+	—
0,013	+	Spur	—
0,008	+	—	—
0,005	Spur	—	—
0,003	—	—	—

Wie man aus dieser Tabelle ersieht, wird das Ptyalin bereits nach 1/4stündiger Einwirkung des galvanischen Stromes etwas geschädigt. Nach einer Stunde ist die Schädigung schon so stark, daß 0,08 ccm Speichels nicht mehr imstande sind, 5,0 ccm einer 1 $^0/_0$igen Stärkelösung in 30 Minuten zu verdauen, während noch 0,008 ccm nicht vorbehandelten Speichels die gleiche Menge Stärke in der gleichen Zeit vollkommen verdauten. Der Speichel war somit bezüglich des Ptyalins nach einstündiger

---

[1]) J. Wohlgemuth, diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

Galvanisation auf den 10. Teil seiner früher diastatischen Kraft reduziert.

Ob die Schädigung des Ptyalins primär durch die direkte Einwirkung der Elektrizität auf das Fermentmolekül selber oder sekundär durch irgendeine chemische Umsetzung in der Flüssigkeit zustande kommt, ist schwer zu entscheiden.

Im folgenden Versuch habe ich den Speichel mit Wasser auf das 20fache verdünnt und galvanisiert. (Stromstärke 4 M.-A.)

Versuch 2 mit dem verdünnten Speichel.
(Galvanischer Strom.)

Fermentmenge	Native Verdünnung	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,05	+	+	+
0,032	+	+	+
0,02	+	+	+
0,013	+	+	Spur
0,008	+	Spur	—
0,005	Spur	—	—
0,003	—	—	—

Die Schädigung des Ptyalins war bei dem 20fach verdünnten Speichel so gering, daß selbst nach einstündiger Galvanisation noch 0,02 ccm fähig waren, 5 ccm Stärke zu verdauen, während von dem nicht verdünnten, mit Galvanisation behandelten Speichel (s. Versuch 1) erst 0,13 ccm hierzu imstande waren.

Versuch 3 mit Anwendung des faradischen Stromes.

Gleiche Versuchsanordnung wie im vorigen. Rollenabstand bei 0.

Fermentmenge	Nativer Speichel	Dauer der Faradisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,02	+	+	+
0,013	+	+	+
0,008	+	+	+
0,005	Spur	Spur	Spur
0,003	—	—	—
0,002	—	—	—

Versuch 4 mit Teslastrom.

Versuchsanordnung: Der Strom wurde durch den Speichel, ohne Abkühlung durch Eiswasser, teils mittels darin eingetauchter Elektroden geleitet, teils wurden nur die Funken durch die Lösung hindurchgeschickt. Dabei trat eine Temperaturerhöhung um 3,5° C ein.

Fermentmenge	Nativer Speichel	Wirkungszeit des Teslastromes 1/3 Std.
0,02	+	+
0,013	+	+
0,008	+	+
0,005	Spur	Spur
0,003	—	—
0,002	—	—

Aus diesen beiden Versuchen geht hervor, daß der Wechselstrom, sowohl faradischer als auch hochgespannter Strom (Teslastrom), auf die diastatische Kraft des Speichels keinen schädigenden Einfluß auszuüben vermag.

II. Beeinflussung des Pepsins.

A. Durch den galvanischen Strom.

Zur Verwendung kam Hundemagensaft, der aus einem „kleinen Magen" nach Pawlow stammte. Die Versuchsanordnung war hier die gleiche wie oben. Was die Bestimmung des Pepsingehalts anbetrifft, so bediente ich mich der Fuldschen[1]) Methode; dieselbe besteht darin, daß absteigende Mengen Magensaft mit je 2 ccm einer 1°/₀₀igen Edestinlösung versetzt und daß nach halbstündiger Digestion bei Zimmertemperatur 0,3 ccm einer konzentrierten Kochsalzlösung zu jeder Probe zugefügt werden. Diejenige Portion, in welcher die erste Trübung zu erkennen ist, gilt als unterste Grenze der Wirksamkeit.

[1]) Diese Zeitschr. 6, 473.

Versuch 5.

a) Pepsinbestimmung.

Fermentmenge	Nativer Saft	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
1,0	+	+	—
0,64	+	+	—
0,40	+	+	—
0,25	+	+	—
0,16	+	+	—
0,10	+	+	—
0,064	+	—	—
0,040	+	—	—
0,025	+	—	—
0,016	+	—	—
0,010	+	—	—
0,0064	—	—	—
0,0040	—	—	—
0,0025	—	—	—

b) Aciditätsbestimmung.

	Nativer Saft	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
Freie HCl . .	82	80	80
Gesamtacidität	106	104	101

Wie man aus dieser Tabelle ersieht, war der Pepsingehalt des nicht vorbehandelten Magensaftes (Kontrolle) so stark, daß 0,01 ccm Saftes 2 ccm einer 1 °/₀₀igen Edestinlösung in 30 Minuten vollkommen verdauten.

Nach 1/4stündiger Einwirkung des galvanischen Stromes wurden bereits 0,1 ccm nötig, um die gleiche Menge Edestin in der gleichen Zeit zu verdauen, so daß also die peptische Kraft des Magensaftes schon auf den 10. Teil reduziert war. Nach einstündiger Galvanisation war das Pepsin vollkommen zerstört.

Im folgenden Versuche wurde der mit Wasser auf das 20fache verdünnte Magensaft galvanisiert. Dabei war die Schädigung des Pepsins genau so stark, wie im nicht verdünnten Magensaft.

Versuch 6 mit verdünntem Magensaft.

a) Pepsinbestimmung.

Fermentmenge	Nativer Saft	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,05	+	—	—
0,032	+	—	—
0,020	+	—	—
0,013	+	—	—
0,008	+	—	—
0,005	Spur	—	—

b) Aciditätsbestimmung.

	Nativer Saft	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
Freie HCl . .	80	60	20
Gesamtacidität	80	80	20

Hieraus ersieht man, daß die Herabsetzung der Acidität eine Stunde nach der Galvanisation sehr stark war. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß die elektrolytischen Vorgänge hier anders verliefen, als im nicht verdünnten Magensafte.

B. Durch den faradischen Strom.

Versuch 7.

a) Pepsinbestimmung.

Fermentmenge	Nativer Saft	Dauer der Faradisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,1	+	+	+
0,064	+	+	+
0,040	+	+	+
0,025	+	+	+
0,016	+	+	+
0,010	+	+	+
0,0064	—	—	—
0,0040	—	—	—

b) Aciditätsbestimmung.

	Nativer Saft	Dauer der Faradisation	
		1/4 Std.	1 Std.
Freie HCl . . .	80	80	80
Gesamtacidität .	101	101	101

C. Durch Teslastrom.

Versuch 8.

Gleiche Versuchsanordnung wie beim Speichel, ohne Eiskühlung. Temperatur war am Ende des Versuches um 2,5° C gestiegen.

a) Pepsinbestimmung.

Fermentmenge	Nativer Saft	Dauer der Einwirkung	
		15 Min.	45 Min.
0,1	+	+	+
0,064	+	+	+
0,040	+	+	+
0,025	+	+	+
0,016	+	+	+
0,010	+	+	+
0,0064	—	—	—
0,0040	—	—	—

b) Aciditätsbestimmung.

	Nativer Saft	Dauer der Einwirkung	
		15 Min.	45 Min.
Freie HCl . . .	80	80	80
Gesamtacidität .	101	101	101

Aus diesen beiden Versuchen geht hervor, daß der Wechselstrom weder das Pepsin, noch die Acidität irgendwie beeinflußte.

III. Beeinflussung des Trypsins.

A. Durch den galvanischen Strom.

Versuch 9.

Als Untersuchungsobjekt diente zunächst nur eine Pankreatinlösung, die aus 1 g Pankreatin, 50,0 ccm Wasser und der gleichen Menge Glycerin bestand. Die tryptische Kraft wurde auch hier nach Fuldscher Methode[1]) bestimmt, und zwar wurden absteigende Mengen Pankreatinlösung mit 2 ccm einer 2°/₀₀igen Caseinlösung versetzt; nach einstündigem Stehen im Brutschrank wurden zu jeder Probe durch Zusatz von 3 Tropfen Alkoholessigsäurelösung zugefügt und festgestellt, in welcher Portion die erste Trübung eintrat.

Fermentmenge	Native Lösung	Dauer der Galvanisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,003	+	+	+
0,002	+	+	+
0,0013	+	+	+
0,0008	+	Spur	Spur
0,0005	—	—	—
0,0003	—	—	—

Das Trypsin in der neutralen Lösung wurde, wie das Ptyalin im verdünnten Speichel, von dem galvanischen Strom nur äußerst wenig geschädigt.

Gegen den faradischen Strom verhält sich das Trypsin wie die anderen beiden Fermente.

B. Durch den faradischen Strom.

Versuch 10.

Fermentmenge	Native Lösung	Dauer der Faradisation	
		1/4 Std.	1 Std.
0,003	+	+	+
0,002	+	+	+
0,0013	+	+	+
0,0008	+	+	+
0,0005	—	—	—
0,0003	—	—	—

[1]) Fuld, Verhdl. d. Ver. f. inn. Med. 1907.

C. Durch Teslastrom.

Versuch 11.

Ohne Eis; die Temperatursteigerung betrug zum Schluß 17° C.

Fermentmenge	Native Lösung	Dauer der Einwirkung 20 Min.
0,003	+	+
0,002	+	+
0,0013	+	+
0,0008	+	+
0,0005	—	—
0,0003	—	—

In diesem Versuche zeigte das Ferment durch den Teslastrom nach 20 Minuten Spuren von Schädigung. Ob die Temperaturerhöhung die Ursache der Schädigung ist, bleibt dahingestellt.

Nun ist es denkbar, daß der Einfluß der Elektrizität speziell des galvanischen Stromes auf das künstliche Pankreasextrakt deshalb nicht zum Ausdruck kam, weil dasselbe neutrale Reaktion zeigte. Es war immerhin denkbar, daß das Trypsin in alkalisch reagierendem Medium anders sich verhalten würde, als in einem neutralen. Aus diesem Grunde untersuchte ich, ob Galvanisation und Faradisation das im natürlichen Pankreassaft enthaltene Trypsin schädigen, und zwar verwandte ich menschlichen Pankreassaft, den mir Herr Dr. Wohlgemuth freundlichst zur Verfügung stellte.

IV. Beeinflussung des Trypsins im menschlichen Pankreassaft.

A. Durch den galvanischen Strom.

Versuch 12.

Fermentmenge	Nativer Saft	Dauer der Galvanisation	
		1 Std.	1/4 Std.
1,0	+	+	+
0,64	+	+	+
0,40	+	+	+
0,25	+	+	+
0,16	+	+	+
0,10	+	—	—
0,064	—	—	—
0,040	—	—	—

B. Durch den faradischen Strom.

Versuch 13.

Fermentmenge	Nativer Saft	Dauer der Faradisation	
		1/4 Std.	1 Std.
1,0	+	+	+
0,64	+	+	+
0,40	+	+	+
0,25	+	+	+
0,16	+	+	+
0,10	+	+	+
0,064	—	—	—
0,040	—	—	—

Der galvanische Strom übt demnach auf das im menschlichen Pankreassaft enthaltene Trypsin ebenfalls nur einen geringen Einfluß aus. Ferner geht aus diesem Versuche hervor, daß das Trypsin gegen HO-Ionen, welche durch die elektrolytischen Vorgänge aus dem Alkali in Freiheit gesetzt sind, resistent ist, weit resistenter, als das Ptyalin gegen HO-Ionen ist. Durch den faradischen Strom erleidet das Trypsin ebenfalls keine Schädigung.

Fassen wir noch einmal sämtliche Resultate zusammen, so ergibt sich, daß Ptyalin, Pepsin und Trypsin sich gegen die Faradisation indifferent verhalten. Auch gegen Teslaströme scheinen die genannten Fermente unempfindlich zu sein, denn nur in demjenigen Versuche, bei dem gleichzeitig eine leichte Temperatursteigerung während des Versuches beobachtet wurde, zeigte sich nachher eine geringe Hemmung. Der galvanische Strom dagegen führte beim Speichel und Magensaft unter allen Umständen bei nur einigermaßen intensiverer Einwirkung eine Schädigung, ja beim Pepsin sogar eine vollständige Vernichtung des Fermentes herbei. Ptyalin ist im Vergleich zum Pepsin dem galvanischen Strom gegenüber wesentlich resistenter; besonders in verdünnter Lösung ist seine Schädigung nur sehr gering. Noch resistenter als das Ptyalin ist das Trypsin, mag es sich in einem neutralen Pankreasextrakt oder in einem stark alkalisch reagierenden Pankreassaft befinden.

Es muß dahingestellt bleiben, ob die schädigende Wirkung des galvanischen Stromes durch direkte Zerstörung des Fermentmoleküls selbst bedingt ist oder indirekt durch chemische Umsetzungen, die sich unter dem Einfluß des galvanischen Stromes in dem Medium abspielen.

Bemerkungen zur Mitwirkung von Bakterien an der Fuselölbildung.

Von

Hans Pringsheim.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 8. Februar 1909.)

Während das Fuselöl für gewöhnlich aus n-Propyl-Isobutyl- und Amylalkohol besteht, gelang es mir vor kurzem, in einem Kornfuselöl der Weender Brennerei auch Isopropyl- und n-Butylalkohol nachzuweisen.[1]) Die letztgenannten Alkohole nun sind die Gärprodukte der gewöhnlichen Buttersäurebakterien[2]), die sich in weiter Verbreitung und ganz besonders auf Früchten, Samen und Knollen finden.[3]) Da nun durch die gleichzeitige Auffindung von n-Butyl- und Isopropylalkohol sehr wahrscheinlich gemacht wurde, daß diese Alkohole durch eine Buttersäuregärung der Maische entstanden waren, so schloß ich, daß das von mir untersuchte Fuselöl seinen Ursprung zwei verschiedenen Vorgängen verdankte, erstens der Wirkung der Hefe auf die Eiweißspaltungsprodukte ihres eigenen und des in den Gärmaterialien enthaltenen Eiweiß, wodurch n-Propyl-Isobutyl- und Amylalkohol entstanden waren, und zweitens der Wirkung der Buttersäurebakterien auf das Gärmaterial, der Isopropyl- und n-Butylalkohol ihren Ursprung verdanken mußten.

Zum Schluß meiner Abhandlung bemerkte ich, daß die Mitwirkung von Bakterien an der Fuselölbildung in so ausgesprochener Weise, wie sie in der Weender Brennerei erfolgt

---

[1]) H. Pringsheim, diese Zeitschr. 10, 490, 1908.

[2]) H. Pringsheim, Centralbl. f. Bakt. (Abt. II) 15, 317, 1905.

[3]) H. Pringsheim, ibid. (Abt. II) 16, 795, 1906 und 20, 248, 1908.

ist, ein extremer Fall sein müsse, da in den meisten untersuchten Fuselölen kein Isopropyl- oder n-Butylalkohl aufzufinden war. So sehr ich auch gewünscht hätte, meine Befunde durch eine erneute Auffindung dieser Alkohole in anderen Fuselölen zu ergänzen, so mußte ich doch fürchten, daß mir kein Zufall ein Fuselöl von der gewünschten Zusammensetzung in die Hände spielen würde.

Um so überraschter war ich, als ich jetzt auf eine mir neue Literaturangabe von Rabuteau[1]) aufmerksam wurde, der beträchtliche Mengen von n-Butylalkohol in einem Kartoffelfuselöl fand. Neben diesem — und den gewöhnlichen Fuselölalkoholen — war in dem von Rabuteau untersuchten Kartoffelfuselöl Isopropylalkohol in bedeutender Menge vorhanden. Rabuteau zerlegte sein Fuselöl durch Destillation in folgende Fraktionen.

n-Propylalkohol	30 ccm
Isobutylalkohol	50 „
Gewöhnlicher Amylalkohol	275 „
Produkte, die höher als 132° siedeten und noch Amylalkohol enthielten:	170 „
Secundärer Amylalkohol	60 „
Isopropylalkohol	150 „
n-Butylalkohol	65 „

Seine Untersuchungen machen den Eindruck völliger Zuverlässigkeit, da er den Isopropyl- und n-Butylalkohol durch Elementaranalyse, Umwandlung in die Essigsäureester und Siedepunktskontrolle dieser identifizierte und den Isopropylalkohol außerdem zu Aceton oxydierte.

Ich glaube daher in den Rabuteauschen Angaben eine Bestätigung der meinen sehen zu dürfen, und ich fühle mich um so berechtigter, meine Schlußfolgerungen über die Mitwirkung der Buttersäurebakterien an der Fuselölbildung auch hier anzuwenden, als in den beiden bisher bekannten Fällen, in denen n-Butylalkohol in bedeutender Menge im Fuselöl aufgefunden wurde, im Rabuteauschen und in meinem, gleichzeitig gerade der Isopropyl-

---

[1]) Rabuteau, Comptes rendus 87, 500, 1878.

alkohol entstanden war. Daß dies für den von Emmerling[1]) angegebenen Fall nicht gilt, scheint nur natürlich, da bei der geringen Menge des vorhandenen n-Butylalkohols, 25 g auf 10 kg Kornfuselöl, der an sich schwer zu isolierende Isopropylalkohol leicht übersehen werden konnte, wenn er nicht überhaupt in seiner Gesamtheit im Wasser des Fuselölbehälters zurückgehalten worden war.

Diesen neuen Beweis für die Mitwirkung von Bakterien an der Fuselölbildung will ich hier anführen, da es nur schwer gelingen wird, solche Beobachtungen, welche für die Theorie der Fuselölbildung von Wichtigkeit sind, durch neue Resultate zu stützen.

---

[1]) O. Emmerling, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 694, 1902.

Notiz zur Darstellung der Glucothionsäure.

Von

P. A. Levene.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research in New York.)

(Eingegangen am 22. Dezember 1908.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit über die „Glucothionsäure" berichten Mandel und Neuberg[1]) über die Schwierigkeiten, welche sie bei der Darstellung der Substanz gefunden hatten. Daß solche Schwierigkeiten vorkommen, war mir nicht unbekannt; in einer Publikation,[2]) welche ich gemeinschaftlich mit Mandel veröffentlichte, erwähnte ich, daß man bei einigen Organen ganz besondere Kunstgriffe zu Hilfe nehmen muß. Zu jener Zeit lag auch nicht so viel daran, die Substanzen in absoluter Reinheit darzustellen, sondern Kenntnis über die Verbreitung der gepaarten Schwefelsäureverbindungen in den Geweben zu erlangen. Es war auch klar, daß die einzelnen Präparate in ihrer elementaren Zusammensetzung voneinander abwichen, und wir waren geneigt, anzunehmen, daß die Unterschiede teilweise durch Verunreinigungen verursacht waren. Daß nicht alle gepaarten Schwefelsäureverbindungen, die in Geweben vorkommen, identisch sind, war seit mehreren Jahren meine Meinung, und ich habe deswegen den Gruppennamen Glucothionsäure statt Chondroitinschwefelsäure von Schmiedeberg vorgeschlagen. Ob die Glucothionsäure aus den parenchymatösen Organen stets identisch ist oder ob sie nur verwandt sind, kann man gegenwärtig mit Sicherheit nicht entscheiden. Sie geben aber alle eine

[1]) J. A. Mandel u. C. Neuberg, Zur Kenntnis der „Glucothionsäure". Diese Zeitschr. 13, 142, 1908.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 386, 1905.

positive Orcinprobe, enthalten keine Pentose, liefern bei der Hydrolyse eine Substanz, welche in ein basisches Bariumsalz mit den Eigenschaften des Bariumsalzes der Glucuronsäure übergeführt werden kann. Diese Tatsachen sind in meinen älteren Berichten angegeben, und nach der Publikation von Mandel und Neuberg[1]) konnte ich mich überzeugen, daß sie alle auch die Probe auf Glucuronsäure mit Naphtoresorcin geben.

Ich stimme Mandel und Neuberg vollkommen darin bei, daß der Erfolg der weiteren Forschung über die Zusammensetzung der Glucothionsäure von der Ausarbeitung eines Verfahrens zur Reindarstellung der Substanz ohne große Verluste abhängen wird; und deswegen teile ich schon jetzt die Verbesserung im Verfahren mit. Die Rohsubstanz wird nach dem alten Verfahren erhalten, in Wasser gelöst, von Kupfer mit Schwefelwasserstoff befreit und der Schwefelwasserstoff durch Durchblasen von Luft entfernt. Die Lösung wird mit wenig Bariumacetat versetzt und die Substanz mit Eisessig gefällt. Der Niederschlag wird auf Seide über Saugpumpen abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und bei vermindertem Druck über Schwefelsäure getrocknet. Das Trocknen wird vorgenommen, um den Niederschlag, der noch Spuren von Nucleinsäure und von Essigsäure enthält, von letzteren möglichst zu befreien, da nucleinsaures Barium in verdünnter Essigsäure teilweise löslich ist. Der Niederschlag, welcher also aus dem Bariumsalze der Nucleinsäure und Glucothionsäure entsteht, wird in Wasser aufgenommen, wobei die Nucleinsäure ungelöst bleibt. Das Filtrat wird wieder mit wenig Bariumacetat versetzt und mit Eisessig gefällt. Diese Operation wird wiederholt, bis alle Nucleinsäure entfernt ist. Falls die Organe nicht frisch aus dem Schlachthause erhalten sind, ist die Reinigung bedeutend mühsamer, weil die ziemlich unlösliche Nucleinsäure durch Autolyse und vielleicht auch durch Bakterienwirkung in eine lösliche Form übergeführt wird, die nicht so leicht wegzuschaffen ist. Die Schwierigkeit, welcher Mandel und Neuberg begegneten, war gerade durch diese Tatsache verursacht. Nach dem angegebenen Verfahren habe ich Glucothionsäure aus dem Sehnenmucin und aus der Milz

---

[1]) J. A. Mandel u. C. Neuberg, Naphtoresorcin als Reagens auf einige Adehyd- u. Ketonsäuren. Diese Zeitschr. 13, 148, 1908.

dargestellt. Die Substanz aus dem Tendomucin hatte vor der Reinigung eine Zusammensetzung

C . . .	27,29
H . . .	3,64
N . . .	2,58
S . . .	4,85
Ba . .	21,90.

W. A. Jacobs und ich[1]) hatten für die Substanz die empirische Formel $C_{14}H_{19}NO_{14}SBa + H_2O$ angenommen. Die Substanz enthielt noch Spuren von Phosphorsäure. Sie wurde einmal nach dem angegebenen Verfahren gereinigt. 1,0 g der getrockneten Substanz wurde für eine Phosphorbestimmung geschmolzen. Es gelang aber nicht einmal, Spuren von Phosphorsäure zu finden.

Die Zusammensetzung der gereinigten Substanz war die folgende:

0,1592 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,1698 g CO_2 und 0,0635 g H_2O.

0,2836 g der Substanz gaben beim Erhitzen mit Salzsäure 0,0670 g $BaSO_4$ und nach weiterem Zusatz von Bariumchloridlösung 0,1250 g $BaSO_4$.

0,4575 g der Substanz verbrauchten bei einer Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zur Neutralisation 8,1 ccm Schwefelsäure (1 ccm = 0,001 404 N).

Zur Analyse war die Substanz bei 80° C in Vakuumexsiccator über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Ein saures Bariumsalz der Substanz von der empirischen Formel: $(C_{14}H_{20}NO_{14}S)_2Ba + 2\,H_2O$ würde

	verlangen:	Gefunden:
C . . .	29,62	29,10
H . . .	4,4	4,14
N . . .	2,48	2,48
S . . .	5,6	6,01
Ba . .	12,29	13,84.

[1]) Journ. of experim. Med. 10, 557, 1908.

Die hier gefundenen Zahlen scheinen also zu bestätigen, daß die empirische Formel, welche Jacobs und ich für die Glucothionsäure aus dem Sehnenmucin angenommen haben, richtig ist.

Es lag mir nur eine ganz kleine Menge eines alten Präparates von Rohglucothionsäure aus der Milz vor. Die Substanz war von Nucleinsäure nicht frei. Die Fällung des Bariumsalzes mittels Eisessig wurde viermal wiederholt. Nach jeder Fällung wurde der Niederschlag im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet. 0,150 g des getrockneten Bariumsalzes gaben nach dem Schmelzen keine Spur von Phosphorsäure.

Bemerkung über die „Glucothionsäuren".

Von

Carl Neuberg.

Der vorangehenden Mitteilung von Levene[1]) entnimmt man, daß seine bisherigen Angaben für die Darstellung von „Glucothionsäure" unzulänglich waren. Auffällig ist dabei, daß er diese Tatsache eingestandenermaßen zwar gewußt, aber in seinen zahlreichen Publikationen über diesen Gegenstand unerwähnt gelassen hat. Angeführt seien zum Beweise dafür nur einige wenige Stellen aus seinen letzten Arbeiten über diese Substanz.

In der Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 386 bis 387 findet man die letzte Vorschrift für die Gewinnung von „Glucothionsäure", und sie schließt mit den Worten:

„Auf diese Weise hergestellte Substanzen sind biuretfrei und enthalten Nucleinsäure nicht einmal in Spuren (sic!); dabei stimmen sie in allen ihren Eigenschaften mit der Glucothionsäure aus Milz überein."

In dieser Zeitschr. 4, 78 bis 79 wird über die Gewinnung der „Glucothionsäure" aus Eiter berichtet. Obgleich dieses Material doch gewiß reich an Nucleinsäure ist, findet sich kein Wort über die Möglichkeit der Verunreinigung mit phosphorhaltiger Substanz, sondern nur die Angabe, daß die Darstellung zu typischer „Glucothionsäure" führe.

Weiter behauptet Levene in der voraufgehenden Notiz[2]):

„Daß nicht alle gepaarten Schwefelsäureverbindungen, die in Geweben vorkommen, identisch sind, war seit Jahren meine Meinung."

---

1) Diese Zeitschr. 16, 246, 1909.

2) Diese Zeitschr. 16, 246, 1909.

Vergebens sucht man nach einem solchen Passus in seinen einschlägigen Mitteilungen, die bis zum Erscheinen der Arbeit von Mandel und mir vorlagen. Schon die Überschrift: „Über die Verbreitung von Glucothionsäure in tierischen Organen“ (Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 386) und der ganze Tenor dieser Mitteifung bezeugen, daß Levene stets nur an eine und dieselbe „Glucothionsäure“ gedacht hatte. In der Bioch. Zt. 4, 79 suchte er die Glucothionsäure im Eiter, und es heißt dort: „Es gelang uns, eine Substanz zu erhalten, die alle Eigenschaften dieser Säure besaß.“

Erst nachdem Mandel und ich[1]) durch die Gegenüberstellung der ganz unmöglichen Analysenzahlen — der S-Gehalt der Ba-Salze ist z. B. höher als der der freien Säuren (!), der N-Gehalt schwankt um 200 %, der S-Gehalt um fast 300 % — auf die mangelnden Beweise für die Einheitlichkeit der „Glucothionsäuren“ verschiedener Herkunft aufmerksam gemacht und den 3,07 % P_2O_5 entsprechenden Phosphorgehalt der nach Levenes Vorschrift aus Nieren hergestellten sog. „Glucothionsäure“ nachgewiesen haben, läßt sich Levene zu den erwähnten Zugeständnissen herbei. Was von seiner Versicherung zu halten ist, er habe mit Mandel gemeinsam auf die Kunstgriffe aufmerksam gemacht, die man zur Erlangung reiner Substanzen anwenden müsse, geht schon aus den gegenteiligen, oben angeführten Zitaten aus seinen diesbezüglichen Mitteilungen hervor; gerade für die von Mandel und mir benutzte „Glucothionsäure“ aus Nieren heißt es Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 390 klar und eindeutig:

„Niere. Auch bei diesem Organ gelangt man ohne Schwierigkeiten zu einem reinen Präparat.“

Weiter äußert Levene, die abweichenden Befunde von Mandel und mir seien dadurch zu erklären, daß wir kein frisches, sondern autolysiertes Nierenmaterial verwendet hätten. Abgesehen davon, daß diese Behauptung unzutreffend ist, hat Levene gerade eine vorhergehende Autolyse zur Darstellung der „Glucothionsäure“ (aus der Leber) empfohlen (Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 391). Da er übrigens in derselben Arbeit verspricht, daß durch die angewandte

[1]) Diese Zeitschr. 13, 142, 1908.

Isolierungsmethode alle Nucleinsäure abgetrennt werde, so müßte es gleichgültig sein, ob ein wenig mehr oder weniger Nucleinsäure in Lösung geht.

Nach der voraufgehenden Mitteilung Levenes könnte der Leser den Eindruck gewinnen, daß die nach der alten Vorschrift erwiesenermaßen unmögliche Entfernung der Nucleinsäure durch einfache Fällung der Bariumsalze (statt wie früher der freien Säuren) nunmehr gelingt. Trotz 8 maliger Umfällung mit Bariumacetat + Eisessig genau nach Levenes Vorschrift, der nur 4 mal angibt, habe ich meine „Glucothionsäure" nicht vom Phosphorgehalt befreien können.

Demnach bleiben alle die Bedenken bestehen, die Mandel und ich gegen die bisherigen Ergebnisse der „Glucothionsäure"-forschung geltend gemacht haben.

Kurz sei noch die Frage nach der Natur des Kohlenhydrates oder der Kohlenhydratgruppen in der „Glucothionsäure" berührt.

Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 401 gibt Levene an, durch Hydrolyse von „Glucothionsäure" ein bei 205 ° C schmelzendes Hexosazon gewonnen und mit der Substanz eine atypische Orcinreaktion beobachtet zu haben. Zeitschr. f. physiol. Chem. 39, 3 erhielt er ein von der entsprechenden Glucuronsäureverbindung verschiedenes, in heißem Alkohol lösliches (nicht analysiertes) p-Bromphenylosazon. Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 390 wird nach Behandlung der hydrolysierten Lösung mit überschüssigem Baryt — er würde etwa vorhandene Glucuronsäure mitgefällt haben — ein (nicht analysiertes) Osazon vom F. 196 ° isoliert.

Orgler und Neuberg[1]) hatten gezeigt, daß bei der Spaltung der früher als substituiertes Kondensationsprodukt von Glucosamin mit Glucuronsäure aufgefaßten Chondroitinschwefelsäure der Stickstoff z. T. mindestens als eine N-haltige Kohlenhydratsäure auftritt. Letzterer schieben sie auf Grund mehrerer Analysen die Formel $C_6H_{13}NO_6$ (Tetraoxyaminocapronsäure) zu. S. Fränkel[2]) gab ihr später die nur 2 Wasserstoffatome ärmere Formel $C_6H_{11}NO_6$ (Aminoglucuronsäure).

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 407, 1903.

[2]) Liebigs Ann. 1906, 541.

Nachdem dann Mandel und Neuberg[1]) auf die Gegenwart einer Kohlenhydratsäure unter den als Spaltungsprodukt der sog. „Glucothionsäure" hingewiesen hatten, gaben jüngst Levene und Jacobs[2]) an, als Spaltungsprodukt der „Glucothionsäure" aus Sehnenmucin Glucuronsäure und Aminoglucuronsäure in Form eines „gemischten Bariumsalzes beider Säuren" erhalten zu haben. Diesmal schmolz das Phenylosazon bei 155°, und sie stellten nach der Methode von C. Neuberg und W. Neimann[3]) der Hydrolyse mit Bromwasserstoff und gleichzeitigen Oxydation mit Brom eine Substanz dar, die vielleicht zuckersaures Silber war. Jedoch ist keines ihrer primären Produkte so charakterisiert, daß ein sicheres Urteil über dieselben möglich wäre.

Der Mitteilung von Levene und Jacobs ist noch zu entnehmen, daß die „Tendomucinglucothionsäure" linksdrehend ist, während die von Mandel und Neuberg untersuchte sog. „Nierenglucothionsäure" rechtsdrehend war.

Die Chemie der „Glucothionsäure" wimmelt von allen nur denkbaren Widersprüchen, und man kann nicht darüber hinwegtäuschen durch die Aufstellung von Formeln für diese amorphen und schlecht charakterisierten Produkte.

Soviel ist nur sicher, daß sie nicht irgendwelche Ester der Glucose sind.

Die Gegenwart von Glucose unter den Spaltungsprodukten der „Glucothionsäure" haben Mandel und Neuberg bereits ausgeschlossen. Da überdies die Namensbildung „—thionsäure" für eine gepaarte Schwefelsäure unrichtig ist, sollte man mit der in jeder Hinsicht irreführenden Bezeichnung „Glucothionsäure" endgültig aufräumen.

---

[1]) Diese Zeitschr. 13, 146, 1908.

[2]) Journ. of experim. Medic. 10, 557, 1908.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 127, 1905.

Berichtigung.

Von

L. Marchlewski.

In meiner Abhandlung „Studien in der Chlorophyllgruppe III" (diese Zeitschr. 16, 3, 1909) befindet sich eine irrige Angabe, die ich schon jetzt berichtigen möchte. Die Zersetzung des sog. Zink-Chlorophylls erfolgt ohne Abgabe von gasförmiger Kohlensäure. Die entgegengesetzte irrige Behauptung wurde durch die Anwesenheit von geringen Mengen Verunreinigungen veranlaßt.

Krakau, den 5. Februar 1909.

Physiko-chemische Verhältnisse der Blutkörperchen.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 1. Februar 1909.)

Während einer Arbeit über die Bedeutung der Salze für die Kobragifthämolyse zeigte es sich als notwendig, auf verschiedene physiko-chemische Verhältnisse der Blutkörperchen näher einzugehen. Da die gefundenen Ergebnisse mehr eine Voraussetzung des Studiums über die Kobragifthämolyse darstellen, halte ich es für zweckmäßiger, dieselben für sich zu publizieren, als in der bald druckfähigen Abhandlung über die Kobragifthämolyse aufzunehmen.

Meine Beobachtungen stellen wohl tatsächlich nicht besonders viel Neues dar. Da es sich aber hier um wichtige Verhältnisse handelt, welche zudem in diesen speziellen Punkten wenig erforscht worden sind, dürften auch Nachprüfungen — besonders mit anderer Methodik —, Berichtigungen und Ergänzungen ihre Bedeutung nicht entbehren.

Um die Wirkung der Salze bei der Kobragifthämolyse zu studieren, wurde Rohrzuckerblut verwendet, und was ich hier mitzuteilen habe, sind verschiedene Eigenschaften dieses Blutes.

1. Die Agglutination.

Gürber[1]) hat wohl als erster beobachtet, daß die Blutkörperchen des Rindes u. a. Tiere nach dem Auswaschen der Serumbestandteile mit Rohrzuckerlösungen agglutinieren und daß diese Agglutination nach einer Aufbewahrung von etwa 10 Stunden

[1]) Habilitationsschrift, Würzburg 1904.

im Eisschranke wieder vollständig gelöst wird. Die Beobachtung ist später von mehreren Forschern bestätigt worden, und wenn man Rohrzuckerblut verwenden will, hat man die Deglutination abzuwarten.

Gürber zeigte weiter, daß diese Agglutination mit der Salzfreiheit der Waschflüssigkeit in engster Beziehung steht, indem schon 0,5 $^0/_{00}$ Kochsalz oder 1 auf 10^5 Na_2CO_3 dieselbe verhindert bzw. die Agglutination wieder aufhebt.

Für Ochsenblut habe auch ich dieselben Tatsachen konstatieren können. Und als Beleg für die Bedeutung der Salze kann weiter angeführt werden, daß Blutkörperchen in Mannit- oder Alaninlösung sich ebenso verhalten (in Alaninlösung tritt aber keine Deglutination ein). Es ist also gleichgültig für die Agglutinationserscheinung, welche Anelektrolyte man verwendet.

Dagegen werden Blutkörperchen vom Kalb in Rohrzuckerlösung nicht agglutiniert, wenn man das Blut direkt mit Rohrzuckerlösung behandelt. Wird aber das Blut zuerst mit Kochsalzlösung ausgewaschen, so findet nach Überführung in Rohrzuckerlösung so gut wie immer eine Agglutination statt, nachdem alles Salz entfernt worden ist. Bei solchem Blute tritt auch eine Deglutination nicht immer auf.

Es fragt sich dann, welche Umstände diese Agglutination bedingen. Gehen wir von dem Kalbsblute aus, so ließ sich konstatieren, daß eine voraufgehende Behandlung mit Chloriden, Nitraten oder Sulfaten eine spätere Agglutination zur Folge hat, während die Phosphate (Dinatriumphosphat), Chromate und Carbonate der Alkalien ohne Wirkung waren. Hieraus ist ersichtlich, daß nur die Salze der stärkeren Säuren die Blutkörperchen derartig verändern, daß eine folgende Rohrzuckerbehandlung Agglutination herbeiführt.

Nun wissen wir aus den Arbeiten Gürbers, Köppes u. a. daß die Kohlensäure der Blutkörperchen bei Aufschwemmung derselben in Salzlösung teilweise mit der Säurekomponente des Salzes ausgetauscht wird. Eine gewisse Quantität Säure wird aufgenommen und eine entsprechende Menge Carbonat tritt in der Außenflüssigkeit auf.

Wäre nun diese Erklärung die richtige, so dürften wir annehmen: 1. daß das Kalbsblut Kohlensäure enthält und 2. daß keine Agglutination durch Salzbehandlung auftreten

kann, wenn man zuerst für die Entfernung dieser Kohlensäure Sorge trägt.

Das letzte läßt sich bequem dadurch erzielen, daß man das Blut zuerst mit Rohrzuckerlösung behandelt, ehe man dasselbe mit der Salzlösung digeriert.

In der Tat war es auch leicht zu konstatieren, daß solches Blut durch Salzbehandlung keine Fähigkeit erlangt, in Rohrzuckerlösung zu agglutinieren. Umgekehrt dürfte Kalbsblut in Rohrzuckerlösung durch Behandlung mit Kohlensäure wieder dieselbe Eigenschaft annehmen. Das war auch der Fall. Leitet man einige Sekunden durch solches Blut Kohlensäure, so bewirkt die Salzbehandlung wieder Agglutination. Die Kohlensäure muß aber sehr vorsichtig zugefügt werden, sonst tritt augenblicklich schon hierbei totale Agglutination ein. Diese Agglutination wird auch später gelöst, wenn nicht zu viel CO_2 zugefügt worden ist. Ebenso kann man immer durch Zusatz von äußerst verdünnter Salzsäure (0,02 bis 0,10 ccm $^n/_{100}$-HCl zu 2 ccm Blutaufschwemmung) Agglutination erzielen.

Hiermit ist also die Agglutinationserscheinung des Kalbsblutes erklärt, und es fragt sich weiter, wie die des Ochsenblutes zu erklären ist. Wie man erwarten konnte, wird das Ochsenblut tatsächlich wegen des größeren Gehaltes an Kohlensäure in Rohrzuckerlösung direkt agglutiniert. Schon die dunkle Farbe des Ochsenblutes differiert wesentlich von der hellroten Farbe des Kalbsblutes. Ich habe auch vom Schlachthaus die Auskunft bekommen, daß das Ochsenblut aller Wahrscheinlichkeit nach aus V. subclavia herstammt, während das Kalbsblut dagegen aus der Carotis entnommen wird.

Diese Vermutung läßt sich aber leicht bestätigen. Entfernt man zuerst die Kohlensäure aus Ochsenblut, so tritt nach Überführung in Rohrzuckerlösung keine Agglutination ein. Und die Entfernung des CO_2 läßt sich bequem durch Auswaschen mit isotonischer Chromatlösung darstellen: Die Kohlensäure diffundiert größtenteils heraus, und das Blut wird nach Überführung in Rohrzuckerlösung nicht agglutiniert. (Hier wie überall wurde bis zur Entfernung des Salzes mit Rohrzuckerlösung ausgewaschen.)

Zuletzt läßt sich noch ein Experimentum crucis anführen. In einem Versuche wurden die Ochsenblutkörperchen direkt in

eine entsprechende Menge Kalbserum übergeführt und nach einigen Minuten mit Rohrzuckerlösung wie gewöhnlich weiter behandelt: Das Blut agglutinierte nicht. Andrerseits wurden die Blutkörperchen des Kalbes in das entsprechende Ochsenserum übergeführt. Auch hier trat keine Agglutination ein. Das Kalbserum muß demgemäß stärkere alkalische Reaktion besitzen als das Ochsenserum. Demgemäß muß die Kohlensäure hierin schneller diffundieren als in einer entsprechenden Menge Ochsenserum. Nimmt man aber eine größere Quantität Ochsenserum, so wird auch hierdurch (wie in einem Versuche gezeigt wurde) die Kohlensäure der Ochsenblutkörperchen entfernt.

Der Unterschied zwischen Ochsenblut und Kalbsblut ist also darin zu suchen, daß das erste venöses, das letzte arterielles Blut darstellt.

Zuletzt fragt es sich aber, warum beim Kalbsblut die Agglutination bei dem geringen Gehalte an Kohlensäure nicht eintritt, wenn doch eine Beladung mit einer entsprechenden Menge einer starken Säure, wie Salzsäure, eine Agglutination herbeiführt. Man könnte denken, daß vielleicht die schnelle Diffusion der Kohlensäure hierbei von wesentlicher Bedeutung wäre. Sicher ist aber, daß die Blutkörperchen etwas — obwohl nur wenig CO_2 ohne Agglutination enthalten können, indem man, wie bemerkt, sehr vorsichtig etwas CO_2 hinzufügen kann, ohne daß Agglutination eintritt. Wird aber diese CO_2 nach Abzentrifugierung der Rohrzuckerlösung durch Salzsäure ersetzt, so agglutiniert das Blut. Die Stärke der Säure ist von Bedeutung.

Andrerseits muß man entschieden die Dissoziation der Säuren berücksichtigen. Die Kohlensäure diffundiert schnell heraus, die stärkeren Säuren viel langsamer.

Dies geht aus der Tatsache hervor, daß die Agglutination von CO_2-beladenen Blutkörperchen nach einiger Zeit aufgehoben wird. Dies trifft aber nicht so oft für mit HCl-beladene Blutkörperchen zu. Ist der HCl-Gehalt nur gering, wird zwar die Agglutination, aber nur sehr langsam gelöst. Bei einem größeren Gehalte dagegen blieben die Blutkörperchen agglutiniert.

Hieraus wird auch das Verhältnis des ursprünglichen Blutes erklärt. Das Blut — auch arterielles — enthält so gut wie immer etwas CO_2. Wird das Blut direkt mit Rohrzuckerlösung

verdünnt, so diffundiert die geringe Menge CO_2 schnell heraus, und entweder tritt keine Agglutination ein oder sie wird schon während des Auswaschens wieder gelöst. Anders bei Behandlung mit Kochsalz. Hier wird der ursprüngliche CO_2-Gehalt gegen einen entsprechenden HCl-Gehalt ausgetauscht, und weil die HCl-Verbindung der Blutkörperchen nur langsam dissoziiert wird, persistiert die meiste Salzsäure mit einer folgenden Agglutination, welche zudem nur langsam und unvollständig wieder aufgelöst wird.

Enthalten die Blutkörperchen aber viel CO_2 wie im venösen Blut, hält sich die meiste Kohlensäure viel länger, und eine Agglutination tritt auf, welche nur langsam aufgelöst wird.

Wenn ich also die Verhältnisse richtig beurteile, ist die Agglutination von einer Säurebeladung abhängig, während der Deglutination die erfolgte Dissoziation der entsprechenden Verbindung entspricht.

Diese Auffassung, für welche ich bindende Beweise glaube geliefert zu haben, steht aber im Gegensatz zu der gewöhnlichen, wie sie z. B. von Höber formuliert worden ist. Hiernach wird die Agglutination der Blutkörperchen mit der Ausflockerung von Suspensionskolloiden verglichen. Die Suspensionskolloide bleiben in Lösung, wenn sie eine elektrische Ladung besitzen, indem die positiv oder negativ geladenen Suspensionen einander ausfällen. Dagegen ist die Ausflockung von einer elektrischen Neutralisation bedingt. Folglich müssen entgegengesetzt geladene Kolloide einander ausflocken, und dasselbe können auch unter Umständen Salze (mit verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen) bewirken.

Bei den Blutkörperchen kann aber wahrscheinlich die Agglutination keiner Entladung entsprechen, indem nur die mit Säuren oder Anionen beladenen Körperchen ausgeflockt werden, während umgekehrt eine Entfernung der Säuren die Agglutination auflöst. Zwar kann man darüber streiten, inwieweit die Säuren als solche oder nur deren Anionen aufgenommen werden. (Es ist aber nicht erwiesen und nicht wahrscheinlich, daß die Blutkörperchen für H-Ionen impermeabel sind, und ich finde überhaupt die von Gürber und Overton angeführten Argumente gegenüber Köppes und Hamburgers Auffassung schwerwiegend.) Werden aber nur die Anionen aufgenommen, so ist es

ganz klar, daß wir hierdurch eine elektrische Ladung der Blutkörperchen bekommen müssen, und in solchem Falle werden also nur die elektrisch differenten Blutkörperchen agglutiniert, welches sehr unwahrscheinlich wäre (cf. die Verhältnisse bei den Suspensionskolloiden).

Werden andrerseits sowohl das Anion wie das Kation oder richtiger die Säure als solche aufgenommen, so kann hierdurch kein elektrisches Potential entstehen, und die Agglutination hat also in diesem Falle mit elektrischen Erscheinungen nichts zu tun. Daß diese letzte Auffassung die richtige ist, geht aus der oben erwähnten Beobachtung hervor, daß Kalbsblut in Rohrzuckerlösung nicht, dagegen nach einer vorhergehenden Kochsalzbehandlung agglutiniert wird und daß erst eine größere Quantität Kohlensäure — wie im venösen Blut — eine Agglutination bewirken kann, welche schon von einer weit kleineren Menge einer starken Säure hervorgebracht wird.

Diese Tatsachen lassen sich wohl am einfachsten so deuten — wie schon angeführt — daß die Säuren mehr oder weniger leicht dissozierbare Verbindungen mit Lipoidstoffen, besonders der Plasmahaut eingehen. Die hierdurch eingetretene Veränderung bildet die Voraussetzung der Agglutination.

Will man hiernach der Agglutination als physikalisches Phänomen (was sie sicher ist) nähertreten, hat man wohl eher daran zu denken, daß durch die Zusammenklebung der Blutkörperchen die Oberflächenspannung vermindert wird. Nun wissen wir nach Gibbs' und Thomsons Untersuchungen, daß wenn ein gelöster Stoff die Oberflächenspannung vermindert, seine Konzentrationen an der Oberfläche zunehmen. Wenn folglich meine Vermutung über das Wesen der Agglutination durch Säuren richtig ist, wird diese also durch eine Ansammlung von Lipoiden an der Oberfläche bedingt. Die Lipoiden wandern also von dem Zellinnern an die Oberfläche.

Es ist auch aus anderen Gründen plausibel, daß diese Erscheinung tatsächlich vorkommt. Die Säuren diffundieren ins Zellinnere hinein. Hier befindet sich ein Überschuß von Alkali, und es wird also das entsprechende Salz gebildet, was Hamburger durch Messung des größeren osmotischen Druckes von säurebeladenen Blutkörperchen direkt bewiesen hat. Es ist aber ganz klar, daß eine Vermehrung des Salzgehaltes für die

gelösten oder suspendierten Lipoide keineswegs gleichgültig ist. Wir wissen ja, daß Phosphatidsuspensionen von Salzen (auch Kochsalz nach des Verfassers Erfahrungen) ausgeflockt werden. Diese ausgeflockten Lipoide können aber in der Lipoidmembran ein gutes Lösungsmittel finden.

Hiermit soll nicht gesagt werden, daß diese Erscheinung die ganze Erklärung darstellt. Im Gegenteil darf man nicht vernachlässigen, daß die Säuren, um diffundieren zu können, erst in der Membran gelöst werden müssen. Da sie aber mit sehr verschiedener Schnelligkeit diffundieren, darf man annehmen, daß diese Lösung keine physikalische, sondern eine chemische darstellt, d. h. die Säuren gehen mit Bestandteilen der Lipoidmembran eine dissozierbare, von dem Partialdruck der Säure abhängige Verbindung ein. Nur unter dieser Voraussetzung lassen sich die oben erwähnten Tatsachen ungezwungen erklären. Durch die dadurch bedingte Alteration der Zusammensetzung der Lipoidmembran wird auch wahrscheinlich die Oberflächenspannung derselben verändert — in casu vermindert —, und die Agglutination folgt.

Hält man an dieser Auffassung fest, so findet die agglutinationshemmende Wirkung der Salze der Außenflüssigkeit ihre Erklärung.

Dies vorausgesetzt, daß die Salze tatsächlich auf die Membran einwirken können, und man glaubt bis jetzt, daß die Lipoidmembran für alle Salze, mit Ausnahme von Am_2CO_3 und AmCl ganz impermeabel ist. Mit Unrecht aber, wie später gezeigt werden soll.

Für die alkalisch reagierenden Salze, wie z. B. Na_2CO_3, dürfte mit Sicherheit die Wirkung darin bestehen, daß die Säure aus der Verbindung der Lipoidmembran gelöst, neutralisiert wird. Die Neutralsalze dagegen bedingen zwar keine Loslösung der Säure, dagegen ist plausibel, daß sie die Eigenschaften der Säureverbindung zu verändern vermögen, indem die Salze selbst von der Membran aufgenommen werden.

Bis jetzt haben wir die Agglutination durch verschiedene Säuren besprochen. Es ist auch interessant, konstatieren zu können, daß Alkalien ebenfalls eine Agglutination bewirken können. Bei dem einwertigen wenig hervortretend, ist besonders bei den dreiwertigen Basen, wie Aluminiumoxyd, die Agglu-

tinationswirkung sehr stark. Übrigens habe ich diese Agglutination nicht näher studiert.

2. Die Permeabilität der Blutkörperchen.

Bekanntlich hat man auf verschiedene Weise die Impermeabilität der Blutkörperchen und anderer Zellen für die meisten Salze erwiesen. Schon aus dem Verhalten der Blutkörperchen in iso-, hyp- und hyperisotonischer Kochsalzlösung geht unzweideutig hervor, daß das Wasser, nicht aber die Salzmoleküle diffundieren. Für Säuren sind sie dagegen permeabel, indem z. B. Kohlensäure schnell durchdringt. Umgekehrt diffundiert nach Überführung in Salzlösung Kohlensäure heraus und wird durch eine entsprechende Menge Säure des Salzes ersetzt. Für Alkalien und Basen sind intakte Zellen überhaupt impermeabel. Nur Ammoniak geht schnell hindurch.

Gegenüber diesen oft bestätigten Tatsachen steht eine Beobachtung von Gürber,[1]) welcher zeigte, daß Ochsenblutkörperchen nach mehrmaligen Auswaschungen mit Rohrzuckerlösung langsam das gesamte Chlor und ebenfalls beinahe alles Natrium verlieren. Alles Kochsalz war also herausdiffundiert. Gegen Gürbers Versuchsanordnung läßt sich nun einwenden, daß die Blutkörperchen vielleicht verändert worden waren und also keine physiologischen Objekte mehr darstellten. Erst nach der 28. Auswaschung mit Rohrzuckerlösung wurde nämlich endgültig eine chlorfreie Waschflüssigkeit (mit entsprechender Chlornatriumfreiheit der Blutkörperchen) erhalten, und, da jede Auswaschung mit einer Abzentrifugierung der Flüssigkeit verbunden war, hatte also der Versuch eine sehr lange Zeit gedauert, und es ist sehr wohl möglich, sogar wahrscheinlich, daß die vielen Auswaschungen und noch mehr die mechanische Einwirkung der Zentrifugierung die Blutkörperchen stark verändert hatten. Aber selbst davon abgesehen, ist doch eine Diffusion, welche erst im Laufe von Tagen vor sich geht, jedenfalls nicht mit den sonst gewöhnlichen Diffusionserscheinungen zu vergleichen, und das Blut kann also dessenungeachtet als praktisch impermeabel für Salze weiterhin angesehen werden. Bekanntlich hat diese Beobachtung Gürbers, welche nicht

[1]) l. c.

weiter verfolgt worden ist, auch nicht die gewöhnliche Auffassung über die Impermeabilität der Salze beeinflußt.

Bei meinen Versuchen mit Kobragift bin ich auch überall davon ausgegangen, und erst nach vieler Mühe und Arbeit bin ich zuletzt darauf aufmerksam geworden, daß die Blutkörperchen vom Rind verhältnismäßig leicht für Salze, d. h. Kochsalz, permeabel sind. Dies ließ sich bei meiner Methodik, welche von derjenigen Gürbers verschieden war, leicht nachweisen, wenn man einmal darauf aufmerksam geworden war.

Bei meiner Versuchsanordnung wurde das Blut mit Rohrzuckerlösung zu einer 5 %igen Aufschwemmung verdünnt und damit zweimal ausgewaschen, während in Gürbers Versuchen eine etwa 30 %ige Blut-Rohrzuckermischung verwendet wurde.

Wurde das Rohrzuckerblut bei Zimmertemperatur einige Zeit — 12 bis 16 Stunden — stehen gelassen, so war eine charakteristische Veränderung eingetreten: das Blut wurde nach Verdünnung mit mehreren Volumen Wasser nicht aufgelöst. Der Unterschied gegenüber frischem Rohrzuckerblut trat ganz scharf hervor, wenn man Blutproben zu 2 ccm zentrifugierte, und nach Ersatz eines bestimmten Teiles der Rohrzuckerlösung durch Wasser die Hämolyse der verschiedenen Proben verglich.

Die Blutkörperchen waren in einer 8 %igen Rohrzuckerlösung aufgeschwemmt. Nach Hamburger liegt die Grenze für das Austreten von Blutfarbstoff bei defibriniertem Rohrzuckerblut bei 5,4 % Rohrzucker. In den folgenden Versuchen bedeuten: total = komplette Hämolyse, + + + = starke, + + = mäßige, + = schwache und — = Spur von Hämolyse.

Tabelle I.

Prozent der Flüssigkeit an Rohrzucker	5,6	5,2	4,8	4,0	2,8	2,4	2,0	1,6
Frisches Blut	0	—	+ —	total				
Dasselbe Blut nach 16 Stunden					0	0	—	+ + + —

Nach dem 16stündigen Stehen bei Zimmertemperatur wird dasselbe Blut, welches frisch dargestellt bei einer Rohrzucker-

konzentration von $4^{0}/_{0}$, erst bei $1,6^{0}/_{0}$ Rohrzucker der Lösung aufgelöst. Diese Tatsache wurde in mehreren Versuchen mit neuen Blutsorten sichergestellt. Die Grenze des Austretens von Blutfarbstoff wurde überall bei etwa $2,0^{0}/_{0}$ Rohrzucker (1,6 bis $2,4^{0}/_{0}$) gefunden. Die Veränderung macht sich aber, obwohl in geringerem Grade, viel schneller geltend. In dem obigen Versuche wurde das Blut schon nach $1^{1}/_{2}$stündigem Stehen wieder untersucht. Nun bewirkte eine Verdünnung bis $4^{0}/_{0}$ Rohrzucker starke (+ + +), aber nicht komplette Hämolyse, und $4,4^{0}/_{0}$ nur Spur von Hämolyse. Wie man sieht, ist die Veränderung schon deutlich nachweisbar.

Nun ist bekannt, daß die Diffusion von der Temperatur abhängig ist, und es ist deswegen nicht ohne Interesse nachzusehen, wie sich die Verhältnisse beim Rohrzuckerblut gestalten. In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse darüber mitgeteilt.

Tabelle II.

Prozent des Rohrzuckers	5,6	4,8	4,4	4,0	3,2	2,8	2,4	2,0
Frisches Blut . .	0	+	++	total				
do. nach $^{1}/_{2}$ Std. bei 37°		0	—	+	+++			
do. nach 1 Std. bei 37°			0	0	—		+++—	
do. nach $1^{1}/_{2}$ Std. bei 37°					0	—	+++—	total

Wie man aus der Tabelle sieht, wird schon nach Aufenthalt von einer halben Stunde im Termostaten das Blut derartig verändert, daß eine Verdünnung, welche beim frischen Blute totale Hämolyse bewirkt, nun nur schwache Hämolyse hervorruft. Nach einer Stunde ist die Änderung schon weit größer, während sie in der folgenden halben Stunde nur langsam fortschreitet. Daß die Diffusion aber noch nicht beendet ist, zeigt die Untersuchung des Blutes nach 18 Stunden bei Zimmertemperatur, indem hier eine Verdünnung bis $2,0^{0}/_{0}$ Rohrzucker ziemlich schwache (+ —) und bis $2,4^{0}/_{0}$ nur eine Spur von Hämolyse hervorbrachte. Anfangs geht also, wie man erwarten konnte, die Diffusion schnell, mit der Zeit aber, nach-

dem das meiste Salz herausdiffundiert ist, nur langsam vor sich. Eine Verbindung aber, die schon im Laufe einer Stunde größtenteils hindurchgeht, kann man jedenfalls nicht als impermeabel bezeichnen.

Es hat ein Interesse, nachzusehen, wie die Diffusion des Salzes im Vergleich mit einer als diffusibel anerkannten Verbindung erfolgt. Untersuchungen hierüber sind mit Glycerin angestellt worden. Das Blut war überall Kalbsblut, welches nach einer voraufgehenden Kochsalzbehandlung in Rohrzuckerlösung übergeführt wurde. (Das Blut agglutinierte nicht, weil das Salz nicht vollständig ausgewaschen war.) Das Blut wurde erst mit einer bestimmten kleinen Quantität Glycerin digeriert und nach einer bestimmten Zeit die Flüssigkeit abzentrifugiert. Nach Überführung in reine Rohrzuckerlösung platzen die glycerinhaltigen Blutkörperchen des Überdruckes wegen. Wird aber zur neuen Rohrzuckerlösung Glycerin gesetzt, so bleiben die Blutkörperchen unverändert. Die Versuche geben selbstverständlich keine Auskunft über den absoluten Gehalt der Blutkörperchen an Glycerin. Dagegen hat man durch Vergleich der Proben die Möglichkeit einer relativen Beurteilung der Verhältnisse. Es zeigte sich nun übereinstimmend, daß die maximale Glycerinaufnahme bei 37° nach $^1/_4$ Stunde, ausnahmsweise nach $^1/_2$ und sehr selten nach 1 Stunde stattgefunden hatte. Bei Zimmertemperatur war derselbe Effekt nach $^3/_4$ bis 1 Stunde erreicht. Dagegen war die Glycerinaufnahme bei 0° bis 4° nach einer Stunde noch sehr unvollkommen. (Bei diesen Versuchen wurde keine Rücksicht auf die Salzdiffusion genommen. In der Tat sind also die quantitativen Verhältnisse etwas komplizierter.) Bei Rohrzuckerblut ohne vorherige NaCl-Behandlung scheint das Glycerin noch langsamer einzudringen. Exakt läßt sich dies aber nicht beweisen, und ich sehe von einer weiteren Besprechung dieser Verhältnisse hier deswegen ab. Die Diffusion des Glycerins erfolgt also schneller als dieselbe des Kochsalzes. Dagegen sind die Unterschiede nicht sehr bedeutend. Und jedenfalls kommt zwischen der Diffusion von Wasser und von Glycerin ein bedeutend größerer Unterschied vor als zwischen Glycerin und Kochsalz.

Ich habe bis jetzt vorausgesetzt, daß die erwähnte Änderung der Blutkörperchen in bezug auf Austreten des Farbstoffes

durch eine Diffusion von Kochsalz erklärt wird. In dieser Beziehung habe ich mich auf die Analysen Gürbers gestützt, nach welchen die rohrzuckerbehandelten Blutkörperchen chlor- und natriumfrei waren. Gürber bemerkt weiter, daß die Flüssigkeit nicht oder nur äußerst schwach sauer reagierte. Dieselbe Beobachtung habe ich gemacht. Und da die Blutkörperchen mit einer viel weniger konzentrierten Rohrzuckerlösung isotonisch geworden sind — ich kann auch zufügen: Salzlösung, indem das Rohrzuckerblut in einem Versuche mit demselben Erfolg in Kochsalzlösung übergeführt wurde —, ist wohl die gegebene Erklärung hinreichend bewiesen.

Obwohl ich über keine analytischen Belege von meinen eigenen Versuchen verfüge, kann ich doch auf eine andere Weise die Auffassung stützen. Das in Tabelle I besprochene Rohrzuckerblut wurde nach 16stündigem Stehen zentrifugiert und die Blutkörperchen in 0,9% Kochsalzlösung übergeführt. Nach 24 Stunden, wie oben, wurden Verdünnungsversuche ausgeführt. Zum Vergleich werden die Ergebnisse des aufbewahrten Rohrzuckerblutes beigefügt.

Tabelle III.

Rohrzuckerlösung bzw. NaCl-Lösung entnommen und mit Prozenten Wasser ersetzt	50	60	65	70	75	80
Rohrzuckerblut . . .			0	0	—	+++—
Rohrzuckerblut in Kochsalzlösung	—	+		total		

Es wurden Doppelversuche ausgeführt. Beide stimmten gut überein. Wie ersichtlich, wird das Rohrzuckerblut nach Digestion mit Kochsalzlösung bei einer etwas höheren Konzentration aufgelöst als die Kontrolproben, was dafür spricht, daß etwas Salz hineindiffundiert ist. Daß die Unterschiede hier geringer sein müssen als bei der entgegengesetzten Versuchsanordnung — kochsalzhaltige Blutkörperchen in Rohrzuckerlösung —, ist ohne weiteres ersichtlich.

Die eben erwähnten Versuche geben uns auch die übrigens an und für sich einleuchtende Erklärung der gewöhnlichen Auffassung über die Impermeabilität des Kochsalzes, indem man

immer das Blut in Kochsalzlösung aufgeschwemmt hat (das Wasser diffundiert viel schneller hindurch, bis Gleichgewicht der Salzkonzentration eingetreten ist).

Es bleibt eine wichtige Beziehung zu berücksichtigen. Wenn die Salze herausdiffundiert sind und das Blut mit einer 0,2 bis 0,3%igen Kochsalzlösung, bzw. 2 bis 3%igen Rohrzuckerlösung isotonisch geworden ist, müssen die Blutkörperchen selbstverständlich bei Aufschwemmung in einer 0,8%igen Kochsalzlösung bzw. 8% Rohrzuckerlösung sich in einem stark hyperisotonischen Medium befinden, und man müßte demgemäß erwarten, daß die Blutkörperchen stark schrumpfen. Das war aber durchaus nicht der Fall. Nach Aufenthalt von 24 Stunden in Rohrzuckerlösung hatten, wie schon Gürber gesehen hat, die Blutkörperchen ihre Form unverändert beibehalten. Es ist demgemäß wahrscheinlich, anzunehmen, daß nach Entfernung der meisten Salze andere Stoffe einen entsprechenden Druck ausüben.[1]) Es liegt in dieser Verbindung nahe, an den Quellungsdruck zu denken. Nur ist nicht einzusehen, warum der Quellungsdruck nach der Entfernung der Salze größer geworden sein soll. Andererseits konnte man auch denken, daß Verbindungen, welche bei Gegenwart von Salzen keinen (osmotischen) Druck ausüben können, nach der Entfernung von diesen sich geltend machen können, z. B. indem sie in Lösung gehen. Endlich wäre möglich, daß durch enzymatische Prozesse neue Verbindungen entstehen können, welche einen Druck ausüben. Man müßte aber dann erwarten, daß dem neuen Druck entsprechend die Blutkörperchen bei Verdünnung platzen würden. Allerdings ist es eine interessante Tatsache, daß die Blutkörperchen sich diesem relativen Überdruck anpassen können, wenn der Druck langsam verändert wird, während sie bei raschen Änderungen des Druckes Volumänderungen unterliegen.

Zuletzt soll erwähnt werden, daß eine Diffusion von Kochsalz auch dann stattfindet, wenn das Blut in eine andere Salzlösung übergeführt wird. Dies trifft sowohl für kochsalzbehandeltes wie für damit nicht behandeltes Rohrzuckerblut zu. Als überzeugende Belege darf ich zwei Versuche anführen, wo

[1]) Daß Rohrzucker hineindiffundiert, scheint mir unwahrscheinlich. In diesem Falle müßten die Blutkörperchen bei der Verdünnung platzen, wenn der Zucker nicht von Eiweiß u. a. aufgenommen wird.

NaCl-behandeltes Rohrzuckerblut in isotonische K_2SO_4-Lösung übergeführt wurde. Bei dem einen Versuch war gleich nach der Mischung der Chlorgehalt von 20 ccm K_2SO_4-Abguß = 0,2 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$. Nach einem Tage entsprachen 40 ccm 2,8 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$.[1]) In dem andern Versuche ergaben 30 ccm Abguß 0,55 ccm bzw. 1,80 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$. Beim Rohrzuckerblut waren die entsprechenden Ziffern 0,1 ccm und 0,45 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$. Daß diese Tatsachen die angeblichen elektrischen Eigenschaften der Blutkörperchen in neues Licht stellen, ist klar. Es soll hier aber nicht näher darüber diskutiert werden. —

Nach Hamburger zeigen Blutkörperchen nach Einwirkung von Säuren beginnenden Farbstoffaustritt in einer stärkeren NaCl-Lösung als zuvor. Die Säure führt eine Schwellung von Blutkörperchen, die in isotonischer Lösung aufgeschwemmt sind, herbei. Diese Erscheinungen werden von Hamburger in der Weise gedeutet, daß die aufgenommene Säure einen Teil der bestehenden Alkali-Eiweißverbindungen im Innern der Blutkörperchen zersetzt, und es bildet sich ein anorganisches Salz. Hierdurch wird also der Salzgehalt vermehrt, und ein großer osmotischer Druck muß entstehen, indem das befindliche Alkali als Eiweißverbindung vorher keinen Druck ausüben kann.

Umgekehrt verändert das Alkali die Blutkörperchen derartig, daß sie in einer schwächeren NaCl-Lösung Farbstoffaustritt zeigen als zuvor. Das Alkali bewirkt auch eine Schrumpfung des Volums (Hamburger). Hamburgers Erklärung hierfür ist die, daß das eintretende Alkali sich mit Eiweiß verbindet. Diese Verbindungen sind nicht ionisiert, während das in Außenflüssigkeit (z. B. Zuckerlösung) befindliche Alkali dissoziiert ist. „Infolgedessen erfährt die Zuckerlösung, welche die Blutkörperchen umgibt, eine größere Zunahme an wasseranziehender Kraft, als die Blutkörperchen selbst. Die Blutkörperchen müssen also schrumpfen." Diese Erklärungen sind aber unrichtig.

---

[1]) Ob auch etwas K_2SO_4 hineindiffundiert ist, läßt sich hieraus nicht ersehen. Jedenfalls war das Blutkörperchenvolum unverändert geblieben (cf. die Verhältnisse des Rohrzuckerblutes). In dem anderen Versuche wurde aber die bemerkenswerte Tatsache gefunden, daß die Resistenz nach dem Stehen in K_2SO_4-Lösung größer geworden war. Es war also mehr Na-Salz herausdiffundiert als K-Salz hineindiffundiert. Beim Stehen in Kochsalzlösung bleibt aber die Resistenz unverändert.

Betreffs Alkali ist erstens zu bemerken, daß das Alkali überhaupt impermeabel — jedenfalls für intakte Zellen — ist; zweitens aber, selbst wenn man dies für einen Augenblick annehmen will, ist es ganz selbstverständlich, daß das Alkali so lange diffundieren muß, bis der Alkalidruck auf beiden Seiten der Lipoidmembran gleich geworden ist. Ob hierbei etwas Alkali als nicht ionisierte Verbindung fixiert wird, ist ganz gleichgültig. Wenn diese Verbindung keinen Druck ausüben kann, muß selbstverständlich nun mehr Alkali hineindiffundieren, bis die Druckdifferenz ausgeglichen worden ist. Da aber dies tatsächlich nicht geschieht, ist schon hiermit bewiesen 1. daß Hamburgers Erklärung unrichtig sein muß und 2. daß das Alkali überhaupt nicht (schneller als die Salze) hindurchgeht. Wenn dies letzte der Fall war, konnten nämlich die Blutkörperchen nicht schrumpfen, was sie tatsächlich tun.

Wenn also Hamburgers Erklärung unrichtig ist, fragt es sich gleich, welches die richtige Auffassung der Alkaliwirkung ist. Diese geht aus dem Studium der Säurewirkung ohne weiteres klar hervor.

Erstens soll erwähnt werden, daß Hamburgers Beobachtung über die geringere Resistenz gegen Verdünnung ganz richtig ist, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle IV.

Proz. NaCl in Lösung nach Verdünnnung	0,63	0,59	0,54	0,50	0,45
NaCl-Blut	—	0	—	+	+++
NaCl-Blut + CO_2	—	++	+++	total	

Ähnliche Versuche teilt auch Hamburger mit, welcher auch für Rohrzuckerblut denselben Erfolg der CO_2-Durchleitung zeigte.

Diese veränderte Resistenz gegen Verdünnung können uns als wertvolles Kriterium zur Untersuchung dienen, inwieweit eine vorherige Kochsalzbehandlung tatsächlich eine Aufnahme von Salzsäure als eine schwerer dissoziable Verbindung als die entsprechende CO_2-Verbindung, welche schnell zerlegt wird, bewirkt. Von meinen vielen Versuchen hierüber kann der folgende

als Beispiel dienen. Das Rohrzuckerblut und NaCl-Rohrzuckerblut hatten 1 Stunde bei Zimmertemperatur gestanden.

Tabelle V.

Proz. Rohrzucker in Lösung nach Verdünnung	5,2	4,8	4,4	4,0
Rohrzuckerblut	0	0	0	—
NaCl-Rohrzuckerblut . .	—	+ +	total	total

Unmittelbar nach der Mischung war sicher die Resistenz des Rohrzuckerblutes geringer. Nach meiner Erfahrung diffundiert auch die CO_2 bei verschiedenen Blutsorten mit verschiedener Schnelligkeit heraus.

Der obige Versuch zeigt aber ganz unzweideutig den Unterschied zwischen dem kochsalzbehandelten und nicht kochsalzbehandelten Rohrzuckerblute, und da wir weiter wissen, daß CO_2 herausdiffundiert und daß weiter in der Außenflüssigkeit unter Umständen sogar direkt chemisch nachweisbare Quantitäten von Na_2CO_3 auftreten, steht es über jeden Zweifel, daß die verminderte Resistenz bzw. der größere Innendruck von der aufgenommenen Salzsäure herstammt.

Es hat nun weiter Interesse, konstatieren zu können, daß dieser Überdruck mehrere Stunden andauert. Nach 24 Stunden sind solche Blutkörperchen allgemein ebenso resistent gegen Verdünnung geworden wie das Rohrzuckerblut ohne Kochsalzbehandlung. Sowohl die Salzsäure (als Salz) wie das Kochsalz ist schließlich herausdiffundiert. Ausnahmsweise ist doch ein solches Blut gefunden, welches nach dieser Zeit auch eine geringere Resistenz (und also großen Druck) aufwies, obwohl wahrscheinlich nicht so gering wie ursprünglich. (Quantitative Bestimmungen fehlen.) Andrerseits ist auch ausnahmsweise solches Blut gefunden, bei welchem eine vorherige Kochsalzbehandlung keine verminderte Resistenz gegenüber gewöhnlichem Rohrzuckerblut zeigte. Solches Blut muß praktisch frei von Kohlensäure sein und hat demgemäß keine Salzsäure aufgenommen. Da überall arterielles Blut verwendet wurde, enthält also auch solches Blut mehr oder weniger Kohlensäure. Ohne bestimmtere Angaben geben zu können, glaube ich mich doch zu der Vermutung berechtigt, daß auch nicht die Diffusions-

membran der Blutkörperchen ganz konstante Eigenschaften besitzen, indem besonders mit der Jahreszeit das Blut sich etwas in dieser Beziehung verschieden verhält (d. h. in bezug auf die Diffusionsgeschwindigkeit).

Wir können weiter durch das Verfahren die Resistenzbestimmung beurteilen, inwieweit Unterschiede zwischen Rohrzuckerblut und Kochsalzblut existieren. Wir haben schon oben aus der Agglutinationserscheinung und Resistenz von kochsalzbehandelten Blutkörperchen in Rohrzuckerlösung einen Unterschied gefunden und haben die Erklärung dafür abgegeben, daß die CO_2 größtenteils schnell herausdiffundiert, während die Salzsäure länger persistiert. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die vergleichenden Versuche, welche unmittelbar nach der Darstellung der Aufschwemmungen angestellt wurden.

Tabelle VI.

Verdünnung mit Wasser in %		35	40	45	50	55
I.	Rohrzuckerblut .	—	+	++	total	
	Kochsalzblut . .	+	++	total	total	
II.	Rohrzuckerblut .			—	++	+++
	Kochsalzblut . .	0	—	+	+++	
III.	Rohrzuckerblut .	0	+	++	total	
	Kochsalzblut . .	—	+++	total	total	
IV.	Rohrzuckerblut .	0	0	0	+	
	Kochsalzblut . .	0	—	+	total	

Der Unterschied ist unverkennbar und besonders deutlich da, wenn das ursprüngliche Blut relativ viel Kohlensäure enthält (obwohl nicht genügend, um Agglutination hervorzubringen). Und werden die Versuche nicht unmittelbar nach der Darstellung des Rohrzuckerblutes ausgeführt, so sind selbstverständlich die Unterschiede noch viel größer. Sonderbar ist es allerdings, daß kein früherer Forscher diese Unterschiede bemerkt hat. Vielleicht hängt es damit zusammen, daß man immer von Kochsalzblut ausgegangen ist und kochsalzbehandeltes Rohrzuckerblut verhält sich genau wie Kochsalzblut. Erst

nach mehreren Stunden ist hier ein Unterschied entstanden, indem das NaCl-Rohrzuckerblut wie bemerkt langsam Säure und Salz verliert, während das Kochsalzblut sich ganz unveränderlich beibehält.

Werden säurebeladene Blutkörperchen mit Alkali oder Alkalicarbonaten behandelt, schrumpfen sie und zeigen größere Resistenz bei Verdünnung mit Wasser, wie Hamburger gezeigt hat. Ebenso verhält sich gewöhnliches Kochsalz- und Rohrzuckerblut. Ein Beispiel genügt zur Illustration.

Tabelle VII.

	NaCl in % nach Verdünnung	0,59	0,54	0,50	0,47	0,45	0,38	0,28	0,22
I.	2 ccm NaCl-Blut . . .	0	—	+		total			
	2 ccm NaCl-Blut + 0,1 Soda . .				0		—	total	
	Rohrzucker-blut nach 16 std. Stehen							0	+
II.	NaCl-Blut + Soda zentrf. NaCl + CO_2 .	+	++	total		total			
	NaCl-Blut + CO_2 zentrf. NaCl + Soda				—		+++	total	
	NaCl-Blut + Soda . . .				0	0	+	+++	

Wir sehen also, daß nach Sodabehandlung die Blutkörperchen eine größere Resistenz gegen Verdünnung bzw. einen geringeren osmotischen Innendruck bekommen, welcher zwar nicht die Größe von dem aufbewahrten Rohrzuckerblut erreicht, aber trotzdem sehr wohl nachweisbar ist. Und diese Änderung tritt augenblicklich ein. Auch nach Säurebehandlung ist die Sodawirkung beinahe ebenso groß wie auf das ursprüngliche Blut. Soda diffundiert aber nur langsam durch die Lipoidmembran, und die Wirkung läßt sich also hieraus jedenfalls nicht erklären. Weiter war die Sodalösung eine isotonische, und ein Überdruck kann folglich nicht hieraus erklärt werden.

Dagegen werden die Erscheinungen ungezwungen erklärt, wenn man annehmen will, daß Soda und Alkali überhaupt ein schnelles Herausdiffundieren der Säure bewirkt.

Die Richtigkeit dieser Auffassung läßt sich in verschiedener Weise beweisen. 1. Wenn Soda eine Verminderung des Innendruckes bei säurehaltigen Blutkörperchen bewirkt, muß die Säure und nicht das Alkali diffundieren. Diffundierte das Alkali nämlich hinein, mußte jedenfalls bei Salzsäurebeladung der Innendruck mindestens ebenso groß bleiben, indem Kochsalz gebildet wurde. Von einer Verminderung des Druckes konnte jedenfalls keine Rede sein. 2. Es läßt sich direkt analytisch nachweisen, daß aus salzsäurebeladenen Blutkörperchen bei Sodabehandlung Chlor herausdiffundiert ist.

In einem Versuch wurden 10 ccm Blut mit 0,9 % NaCl-Lösung bis 10 % Blutaufschwemmung verdünnt, zweimal damit zentrifugiert und zuletzt einmal mit 8 % Rohrzuckerlösung ausgewaschen. Die Blutkörperchen wurden mit 50 ccm isotonischer K_2SO_4-Lösung versetzt, die Flüssigkeit in zwei gleich großen Teilen zu 25 ccm geteilt und der eine Teil mit 1,2 ccm isotonischer Sodalösung versetzt und beide gleich wieder zentrifugiert. Der Chlorgehalt des sodabehandelten Blutes war 0,021 % (20 ccm Abguß verbrauchten 1,2 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$), die Kontrollprobe enthielt nur 0,0035 % (20 ccm Abguß verbrauchten 0,2 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$) Chlor. Der Versuch beweist also unzweideutig, daß Chlor herausdiffundiert.

Die Erklärung hierfür ist auch gegeben. Wenn das salzsäurehaltige Rohrzuckerblut langsam Säure (und Salz) abgibt, war die Erklärung hierfür, daß eine Dissoziation der Säureverbindung in erster Linie in der Lipoidmembran mit Diffusion der freigemachten Säure stattfindet, indem der Säurepartialdruck der Außenflüssigkeit auf 0 gesunken war. Es ist klar, daß ein Zusatz von Soda denselben Effekt besitzen muß. Nur bleibt noch der Unterschied, daß bei Sodabehandlung die Diffusion sehr schnell von statten geht. Dieser Unterschied ist aber zu erwarten, indem das Soda auch direkt auf die Säureverbindung einwirken kann, nämlich auf die Säureverbindung der Lipoidmembran und hier direkt die Säure aufnehmen, neutralisieren kann. Da weiter die Säure in dem Innern der Blutkörperchen in Lösung vorkommen muß, (sonst wäre ein vergrößerter

Innendruck unmöglich), und zwar spurenweise als freie Säure wegen Konkurrenz mit Phosphorsäure, Schwefelsäure und Eiweiß um das Alkali, bildet sich nach der Neutralisation der Säure-Lipoidmembranverbindung augenblicklich hier eine neue Säureverbindung, welche dann ihrerseits neutralisiert wird usw., bis zuletzt Gleichgewicht überall eingetreten ist, d. h. bis die Alkalikonzentration auf beiden Seiten der Lipoidmembran gleich geworden ist. Dies wird aber erst dann eintreten können, wenn die verschiedenen Affinitäten im Innern der Körperchen gesättigt worden sind. Und es ist von vornherein ganz klar, daß bei säurebeladenen Blutkörperchen mehr Säure entfernt wird als bei solchen Blutkörperchen, wo eine solche Beladung nicht stattgefunden hat. Dagegen spricht nichts dagegen, daß auch bei den letzten etwas Säure abgegeben werden kann, was z. B. beim Rohrzuckerblut tatsächlich der Fall ist.

Dagegen darf man erwarten, daß eine Sodabehandlung bei einem Blute, welches durch Stehen mit Rohrzuckerlösung sein Kochsalz verloren hat, keinen oder jedenfalls einen weit geringeren Erfolg zeigen soll. Dies ist auch tatsächlich der Fall. In der folgenden Tabelle habe ich einige Versuche hierüber zusammengestellt.

Die Versuche zeigen eine Bestätigung der entwickelten Auffassung. Vergleicht man aber weiter die Resistenz der Blutkörperchen nach dem Stehen in Rohrzuckerlösung mit der Wirkung der Sodabehandlung, so ist die letzte überall geringer, wie man auch erwarten konnte, indem beim Stehen das Kochsalz, nach Sodabehandlung aber nur die Säure diffundiert.

Es fragt sich aber, nach dem wir bei der Sodawirkung gesehen, ob nun auch beim Stehen des Rohrzuckerblutes Kochsalz und nicht vielmehr Säure allein herausdiffundiert. Die Frage ist zu verneinen. 1. Dagegen spricht die langsamere Diffusion des kochsalzbehandelten Rohrzuckerblutes gegenüber der schnelleren Diffusion beim nicht mit NaCl-behandelten Rohrzuckerblute; 2. weiter die fehlende Agglutination des Rohrzuckerblutes. Entstünde aber eine Säure-Lipoidmembranverbindung, müßte auch eine Agglutination auftreten. 3. Die diffundierte Flüssigkeit reagiert nicht sauer. Eine Berechnung zeigt, daß die präsumierte Säure sonst hierzu reichlich genügte. 4. Hat doch Gürber gezeigt, daß so gut wie alles Natrium herausdiffundiert ist, und der ur-

Tabelle VIII.

	Verdünnung mit Wasser in %	35 %	40 %	45 %	47 %	50 %	57 %	60 %	63 %	65 %	68 %	70 %	75 %	78 %
I.	NaCl-Blut	—	+++	total		total								
	NaCl-Blut + Soda (0,1)				0		+++		total		total			
	Rohrzuckerblut, frisch	0	+	++		total								
	Rohrzuckerblut n. 24 Std.							0		0		+	+—	
II.	Rohrzuckerblut, frisch			—		++	+++	total						
	Rohrzuckerblut, frisch + Soda				0		—		++—		total			
	NaCl-Blut	0		+		+++								
	NaCl-Blut + Soda				0		+		total					
	Rohrzuckerblut, nach 16 Std. zentr. NaCl					0		0		0		+		
	Rohrzuckerblut, nach 16 Std. zentr. + Soda				0		0		0		0			—
	Rohrzuckerblut, frisch		+	++		total								
	Rohrzuckerblut n. 16 Std.							0				—	+—	total
	NaCl-Blut	+	++	+++—		total								
	NaCl-Blut + Soda				0		0		+		+++			

sprüngliche Natriumgehalt ist keineswegs gering. 5. Es läßt sich analytisch nachweisen, daß das Blut nach dem Stehen ungefähr dieselbe Quantität Chlor (in einem Versuche 0,0245 $^0/_0$) wie nach Sodabehandlung (0,021 $^0/_0$) verloren hat, trotzdem die Druckverminderung beim ersten größer ist. Dies wäre unverständlich, wenn nur die Säure herausdiffundiert wäre. Dagegen ist denkbar, daß beim Rohrzuckerblut neben Kochsalz auch etwas Säure (HCl) herausdiffundiert.

Eine andere Frage ist aber, ob bei der Sodabehandlung außer Säure auch Kochsalz hindurchgeht oder ob die Sodaeinwirkung die Membran durchlässiger macht als zuvor, z. B. durch Schädigung. Die absolute Alkaliquantität dürfte hierzu nicht zu gering sein, indem z. B. der Muskel bei entsprechender Sodakonzentration (etwa 0,05 $^0/_0$) geschädigt wird. Trotzdem dürfte die kurze Zeit der Einwirkung kaum eine nennenswerte Schädigung abgeben. Dies geht auch aus der Tatsache hervor, daß die Sodawirkung reversibel ist. Eine folgende Säurebehandlung bringt wieder die für die Säurebeladung charakteristische verminderte Resistenz hervor, was mit einer Schädigung der Lipoidmembran unvereinbar ist.

Die mitgeteilten Untersuchungen sind dazu geeignet, unsere Auffassung über den isotonischen Koeffizienten des Blutes etwas zu ändern. Wenn wie gewöhnlich das Blut direkt mit Kochsalzlösung verdünnt wird, muß überall etwas Salzsäure aufgenommen werden, indem alles oder so gut wie alles Blut nicht unbeträchtliche Quantitäten Kohlensäure enthält. Da aber der CO_2-Gehalt nicht konstant ist, muß ebenfalls der Säuregehalt und damit der Druck wechseln. Der isotonische Koeffizient kann demgemäß schon nach theoretischen Betrachtungen keine konstante Größe darstellen. Ich glaube deswegen, daß es richtiger wäre, das Blut erst in Rohrzuckerlösung aufzuschwemmen und nach der Diffussion der CO_2 die Zuckerlösung durch Salzlösung zu ersetzen. Hier begegnet man allerdings der Schwierigkeit, daß die Salze augenblicklich zu diffundieren anfangen. Wie bemerkt, geht aber diese Diffusion bei gewöhnlicher Temperatur nur langsam von statten und der dadurch bedingte Fehler ist sicher geringer als der durch den CO_2-Gehalt bedingte.

Über ein neues Hämatin.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Francesco de Grazia.

(Aus dem Laboratorium für klinische Chemie der Kgl. Universität Palermo.)

(Eingegangen am 6. Febraar 1909.)

Die Veränderungen, die das Blut unter dem Einflusse der Magenverdauung erleidet, sind noch nicht zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht worden. Es ist bekannt, daß sich zuweilen das Blut im Mageninhalt in Form eines wasserunlöslichen Pigments vorfindet, welches beim Filtrieren zurückbleibt, derart, daß die Untersuchungen auf Blut positiv ausfallen bei Verwendung des auf dem Filter zurückgebliebenen Materials, während das Filtrat nicht die Reaktionen des Blutes gibt. Weber hat daher empfohlen, den Mageninhalt mit Essigsäure zu mischen und mit Äther auszuziehen. Und man hat beobachtet, daß das in Essigäther lösliche Pigment das Spektrum des sauren Hämatins zeigt.

Die Autoren, welche wie Kowarsky behaupten, daß, wenn der Mageninhalt freie Chlorwasserstoffsäure und erhebliche Mengen organischer Säuren enthält, das Oxyhämoglobin in salzsaures Hämatin überginge, geben keinerlei Beweis für ihre Behauptung, während die Resultate meiner Untersuchungen, welche ich weiter unten mitteilen werde, beweisen, daß unter jenen Verhältnissen sich niemals Hämin, sondern Hämatin bildet.

Es sind außerdem einige Reaktionen eingeführt worden, welche zum Nachweis der geringsten Spuren von Blutfarbstoff im Mageninhalt dienen, und dies ist alles, was wir über den Gegenstand wissen.

Zweck vorliegender Arbeit ist es gewesen, zu untersuchen, ob das Hämatin, das durch die (künstliche) Magenverdauung erhalten wird, mit dem durch die gewöhnlichen Herstellungsmethoden gewonnenen identisch ist. Es ist vielfach die Einheitlichkeit des Hämatins erörtert und behauptet worden, daß das Vorhandensein verschiedener Hämatine angenommen werden müsse, eben weil die Zusammensetzung des Hämaglobins bei den verschiedenen Tierarten eine verschiedene zu sein scheint (das Hämoglobin der Vögel enthält auch Phosphor), wodurch es erklärlich werden würde, daß die Konstitutionsformel des Hämatins noch nicht in endgültiger Weise festgestellt ist. Die Untersuchungen der letzten Jahre, die vor allem Küster zu danken sind, dürften aller Wahrscheinlichkeit nach zur Annahme führen, daß das Hämatin einheitlich ist und die beobachteten Unterschiede in den von den verschiedenen Forschern gewonnenen Hämatinen von den verschiedenen Darstellungsweisen, der Neigung des Hämins (denn meistens wird ja das Hämatin aus Hämin dargestellt) zusammen mit den Lösungsmitteln angehörigen Elementen auszukrystallisieren (Abderhalden) oder von der Möglichkeit abhängig sind, daß das Hämatin in Kontakt mit den zu seiner Darstellung verwendeten Stoffen zusammengesetzte Äther bildet (Nencki und Zaleski).[1])

Dies vorausgeschickt, erscheint die Annahme berechtigt, daß das von der Pepsinverdauung stammende Hämatin von den auf andere Weise bereiteten verschieden sein dürfte. Ich bemerke sogleich, daß bisher nur ein einziger Forscher auf den Gedanken gekommen ist, ein Hämatin durch Einwirkung von Pepsinchlorwasserstoffsäure auf Pferdeblut herzustellen und zu analysieren, und zwar ist dies R. v. Zeynek, dessen Veröffentlichung mir erst bekannt wurde, als die vorliegende Arbeit bereits fast fertiggestellt war. Er führte die künstliche Verdauung des Blutes unter anderen Bedingungen als ich aus. Zunächst stellte er aus dem Pferdeblut die Oxyhämoglobinkrystalle dar, machte davon eine $5^0/_0$ige Lösung, welche er mit Sauerstoff sättigte, gab dann Salzsäure bis zum Verhältnis

[1]) Neuerdings haben Vila und Piettre ein Hämatin in krystallinischer Form erhalten, indem sie die Oxyhämoglobinkrystalle mit ameisensäurehaltigem Methylalkohol behandelten. Die prozentuale Zusammensetzung dieses Produkts ist identisch mit der des amorphen Hämatins.

von 2 bis 3°/₀₀ zu, mischte die Oxyhämoglobinlösung mit einer Auflösung von Pepsin in 4°/₀₀ Salzsäure und ließ die Mischung mehrere Tage bei einer Temperatur von 38 bis 40° C stehen. Darauf verdünnte er die Flüssigkeit stark mit 4°/₀₀ Chlorwasserstoffsäure. Es wurde so ein brauner Bodensatz erhalten, während die darüber stehende, ebenfalls braun gefärbte Flüssigkeit bei der chemischen Untersuchung die Anwesenheit kleiner Eisenmengen zeigte und ein dem Hämochromogen ähnliches Spektrum gab.

Das Sediment bestand aus Hämatin in Form eines feinen braunen Breies, dem größere Teilchen von hellgelber Farbe beigemischt waren, zu deren Lösung der Brei mit 1°/₀iger Salzsäurelösung geschüttelt wurde. Dann wurde abgegossen und der Hämatinsatz gut mit Wasser ausgewaschen und auf einem Filter gesammelt. Um sich gegen jede Verunreinigung zu sichern, führte Verfasser das so erhaltene Hämatin, anstatt es direkt zu analysieren, mit Hilfe von Aceton und darauffolgendem Zusatz von Chlorwasserstoffsäure in Hämin über, löste die Häminkrystalle in schwacher Kalilauge, aus der er dann das Hämatin durch verdünnte Schwefelsäure ausfällte. Das Aussehen des so dargestellten Hämatins war vollkommen analog dem des nach anderen Methoden erhaltenen Hämatins. Es war unlöslich in Äther, wenig löslich in Chloroform, etwas mehr in Alkohol und noch mehr in Essigsäureanhydrid und in Pyridin. Die Elementaranalyse führte v. Zeynek dahin, für dieses Hämatin die Formel $C_{34}H_{33}N_5FeO_5$ aufzustellen.

Da, wie bereits erwähnt, meine Absicht die war, das Blutpigment zu studieren, welches sich im Mageninhalt findet als Resultat der Modifikationen, denen das aus den Gefäßen ergossene, eine Zeitlang unter der Wirkung des Magensaftes gebliebene Blut unterworfen gewesen ist, stellte ich, noch bevor ich die Arbeit v. Zeyneks kannte, Versuche an, wobei ich mich möglichst den natürlichen Verhältnissen zu nähern suchte. Diese sind allerdings bedeutend einfacher. Ich mischte nämlich frisches defibriniertes Ochsenblut mit künstlicher Magenflüssigkeit, bestehend aus 2 g Salzsäure, 5 g reinem Pepsin, 1 g Natriumchlorid auf 1 Liter destillierten Wassers. Durch Ausprobieren fand ich, daß das zweckdienlichste Verhältnis zur Abspaltung des sämtlichen Hämatins vom Globin

in 1 Teil Blut auf 9 Teile Verdauungsflüssigkeit bestand. Die Mischung ließ ich im Ofen bei 38° C stehen. Je nach den verschiedenen Pepsinen des Handels vollzog sich die Operation mehr oder weniger rasch, mit dem Merckschen Pepsin nach ca. 12 Stunden, mit anderen Pepsinen nach 24 bis 36 Stunden, mit einigen anderen vollzog sie sich überhaupt nicht, und die Mischung ging in Fäulnis über. Bei Verwendung des Merckschen Pepsins fand sich nach 12stündigem Stehenlassen im Ofen die Mischung scharf in zwei Schichten getrennt, eine obere viel reichlichere, die keine Spur von Blutfärbung mehr zeigte und mehr oder weniger durchsichtig war, und in eine untere Schicht in Form eines aus bald ganz feinen, bald größeren Teilchen von schwärzlicher Farbe bestehenden Breies. Durch Dekantieren wurden die beiden Schichten getrennt. Die obenstehende Flüssigkeit enthielt kein Eisen, noch gab sie die chemischen Reaktionen des Blutes. Ebensowenig gab sie Häminkrystalle oder irgend ein Spektrum. Sie enthielt kein Eiweiß, wohl aber Pepton und Chlor. Ich brachte den Hämatinsatz auf gehärtete Schleicher- und Schüllfilter Nr. 575 und wusch sie mit heißem destilliertem Wasser so lange aus, bis das Filtrat pepton- und chlorfrei war. Dann brachte ich mit Hilfe eines Spatels das noch feuchte Sediment in eine Glasschale und trocknete im Wasserbade, da das Hämatin, auf den Filtern getrocknet, eine glänzende lackähnliche Schicht bildete, welche dem Papier so stark anhaftete, daß sie nicht davon abgelöst werden konnte. Schließlich trocknete ich das Produkt weiter im Trockenschranke bei 50° C bis zu konstantem Gewicht. Ich erhielt so eine Substanz von schwärzlicher Farbe, krystallinischem Glanz, in Wirklichkeit aber amorph, unlöslich in Wasser, sehr leicht löslich dagegen in schwacher Natron- oder Kalilauge, Natriumcarbonat oder Ammoniaklösung, weniger leicht in angesäuertem Alkoholäther, ebenfalls löslich in nicht angesäuertem Alkohol und in Chloroform, fast unlöslich in nicht angesäuertem Äther. Aus 100 ccm Blut wurden ungefähr 1,20 g trockenes Hämatin erhalten.

Um ein möglichst reines Produkt zu bekommen, löste ich das so erhaltene Hämatin in einer geringen Menge schwacher Kalilauge und fällte dann mit schwacher Chlorwasserstoffsäurelösung aus. Durch Sammeln des Niederschlages auf gehärteten

Filtern, Auswaschen und Behandeln wie zuvor erzielte ich von neuem das Produkt, welches dasselbe Aussehen wie früher zeigte.

Das erste wie zweite Produkt unterzog ich der Elementaranalyse mit analogen Resultaten, so daß man behaupten kann, daß sie in keiner Weise voneinander abweichen.

Zunächst enthält die von mir gewonnene Substanz kein Chlor, da sie, mit einer mit Kupferoxyd gesättigten Phosphorsalzperle verbrannt, keine Grünfärbung gibt. Ebensowenig enthält sie Schwefel, da bei Glühen in einem Reagensröhrchen mit einem Gemisch von Natriumcarbonat und Magnesium und Behandlung mit Wasser keine violette Färbung mit Nitroprussidnatrium (Reaktion der Sulfide) eintritt.

Das Eisen wurde nach der folgenden Methode bestimmt. Eine genau abgewogene Substanzmenge wurde in einem Kjeldahlschen Kölbchen mit konzentrierter Schwefelsäure so lange erhitzt, bis eine braune Flüssigkeit erzielt wurde. Nach dem Erkalten wurden wenige Tropfen konzentrierter Salpetersäure zugesetzt und zum Kochen erhitzt, derart, daß die Salpetersäure vollständig ausgetrieben wurde. Es wurde so eine klare farblose Flüssigkeit erhalten, und auf dem Boden des Kölbchens setzte sich das Ferrisulfat ab. Mit destilliertem Wasser wurde verdünnt, bei 15° C erkalten lassen und in das Kölbchen mitten in die Flüssigkeit ein an einem Platindraht befestigtes reines Zinkstäbchen eingeführt. Nach einigen Stunden der Wasserstoffentwicklung wurde leicht im Wasserbad erwärmt, bis die Flüssigkeit bei der Probe mit Rhodankalium keine Färbung mehr gab (Anwesenheit von Ferrisalz). Ebenso wurde die Flüssigkeit mit in einer alkalischen Lösung von Bleiacetat getränkten Filtrierpapierstreifchen geprüft, um über die Abwesenheit von Schwefelwasserstoff Gewißheit zu erlangen, welcher sich durch Reduktion der Schwefelsäure bilden konnte. Die Abwesenheit von Schwefelwasserstoff bestätigte sich durch die Probe mit alkalischer Nitroprussidnatriumlösung. Darauf wurde die Flüssigkeit auf ein bekanntes Volumen gebracht und das Ferrosulfat mit $^{n}/_{20}$-Kaliumpermanganatlösung titriert. 1 ccm dieser Lösung entspricht bekanntlich 0,0056 g Eisen.

Der Stickstoff wurde nach der Dumasschen Methode bestimmt, der Kohlenstoff und Wasserstoff nach der gewöhnlichen Verbrennungsmethode.

I. 0,2170 g Substanz von konstantem Gewicht über Schwefelsäure lieferten 0,1258 g Wasser und 0,4927 g Kohlensäureanhydrid.

II. 0,1938 g Substanz lieferten 7,70 ccm Stickstoff bei der Temperatur von 18° C und korrigiertem Druck von 749 mm (Substanz erhalten durch Blutverdauung mit Pepsin und Chlorwasserstoffsäure).

III. 0,1248 g Substanz lieferten 5,60 ccm Stickstoff bei der Temperatur von 17° C und korrigiertem Druck von 748 mm (Verdauung des Blutes mit Pepsin und Schwefelsäure).

IV. 0,1560 g Substanz gaben 4,70 ccm Stickstoff bei der Temperatur von 18° C und korrigiertem Druck von 748 mm (längere Verdauung des Blutes mit Pepsin und Chlorwasserstoffsäure).

V. 0,9819 g Substanz verbrauchten 14,6 ccm einer $^{n}/_{10}$-Kaliumpermanganatlösung.

VI. 0,4974 g Substanz verbrauchten 7,95 ccm einer $^{n}/_{10}$-Kaliumpermanganatlösung.

Auf 100 Teile.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
C	61,93	—	—	—	—	—
H	6,41	—	—	—	—	—
N	—	4,59	5,20	3,48	—	—
Fe	—	—	—	—	8,32	8,89

Berechnet für $C_{32}H_{38}N_2FeO_7$

C	62,10
H	6,10
N	4,50
Fe	9,06

Wie man sieht, handelt es sich bei dem von mir erhaltenen Produkt um eine neue Hämatinvarietät, welche hauptsächlich durch einen überaus niedrigen Prozentgehalt an Stickstoff ausgezeichnet ist. Dieser beträgt ungefähr die Hälfte des Stickgehaltes nach den alten und den neueren von Nencki und Sieber und Küster gefundenen Formeln und fast ein Drittel vom Stickstoffgehalt des v. Zeynekschen Hämatins (mit 11,28% Stickstoff, eine Zahl, die etwas höher ist, als sie der von ihm aufgestellten Formel entsprechen würde), trotzdem sowohl mein

Hämatin wie das v. **Zeyneksche** durch künstliche Verdauung des Blutes mit salzsaurem Pepsin erhalten worden ist. Zu bemerken ist, daß auch v. Zeynek den Stickstoff nach der Dumasschen Methode bestimmte.

	$C_{60}H_{70}N_{8}Fe_{2}O_{10}$ %	$C_{32}H_{32}N_{4}FeO_{4}$ (Nencki u. Sieber) %	$C_{34}H_{34}N_{4}FeO_{5}$ (Küster) %	$C_{34}H_{35}N_{5}FeO_{5}$ (v. Zeynek) %	$C_{32}H_{38}N_{2}FeO_{7}$ (neues Hämatin) %
C	64,25	64,86	64,35	62,87	62,10
H	5,51	5,40	5,36	5,39	6,10
N	8,84	9,48	8,85	10,79	4,50
Fe	8,80	9,44	8,81	8,63	9,06
O	12,51	10,81	12,69	12,33	18,10

Es ist möglich, daß unter den Versuchsbedingungen, unter denen ich arbeitete, indem ich die Verdauungsflüssigkeit in direktem Kontakt mit frischem defibriniertem Blut brachte, das salzsaure Pepsin energischer eingewirkt hat, indem es nicht nur das Globin von dem Hämatin abspaltete, sondern auch das Hämatinmolekül zum Teil verdaute und spaltete.

Der so niedrige Prozentgehalt an Stickstoff bei meinem Hämatin läßt sich nicht auf ungenügende Reinheit zurückführen, da die Bestimmung des Eisens sehr gut mit der von mir aufgestellten Formel übereinstimmende Zahlen lieferte. Dagegen findet die soeben erwähnte Hypothese, daß während der Verdauung das Hämatin selbst angegriffen werde, eine Stütze in den von mir ausgeführten verschiedenen Stickstoffbestimmungen (siehe oben). In der Tat bezieht sich die erste Stickstoffbestimmung auf das Produkt der 12stündigen Verdauung des Blutes mit salzsaurem Pepsin, und in diesem Falle ist der Prozentgehalt an Stickstoff fast der theoretische (4,59%). Die zweite bezieht sich auf künstliche Verdauung des Blutes, bei welcher die Chlorwasserstoffsäure in dem entsprechenden Verhältnis durch Schwefelsäure ersetzt wurde. Das zur Entfaltung der Wirkung des Pepsins notwendige saure Medium wurde so respektiert, doch sind wir von den physiologischen Verhältnissen der Verdauung abgewichen, und es wurde ein Hämatin mit weniger niedrigem Prozentgehalt an Stickstoff (5,20%) erhalten. Die dritte Bestimmung wurde mit dem Produkt einer längeren Verdauung ($3^1/_2$ Tage) des Blutes mit chlorwasserstoffsaurem

Pepsin ausgeführt, indem alle 24 Stunden die über dem Hämatinsediment stehende Flüssigkeit abgegossen und jedesmal neue Verdauungsflüssigkeit zugesetzt wurde. In diesem Falle wurde eine noch niedrigere Stickstoffzahl erhalten als bei der ersten Bestimmung (3,48 %).

Das erste von mir erzielte, der Formel $C_{32}H_{38}N_2FeO_7$ entsprechende Produkt scheint also die erste Verdauungsphase des Hämatins vorzustellen, dessen Molekül bei Fortdauer der Einwirkung der Verdauungsflüssigkeit weiterhin neue Modifikationen erleidet, wodurch es sich immer mehr zu vereinfachen strebt.

Die Untersuchung der bei den Versuchen mit künstlicher Blutverdauung, mit denen wir uns bis jetzt beschäftigt haben, über dem Hämatinsediment stehenden Flüssigkeit gibt folgende Resultate. Dieselbe enthält außer dem Pepton keine sonstige stickstoffhaltige Substanz. Die Ammoniakprobe mit Nesslerschen Reagens fällt negativ aus, ebenso die auf Salpetersäure und salpetrige Säure (mit schwefelsaurer Diphenylaminlösung).

Selbstverständlich sind die Untersuchungen nicht als abgeschlossen, sondern als kaum begonnen zu betrachten, und ich nehme mir vor, sie fortzuführen in der Absicht, die weiteren Veränderungen des Hämatinmoleküls durch Verdauung zu studieren. Überdies habe ich Untersuchungen im Gange zwecks Bestimmung des Einflusses, den der mehr oder weniger lange Kontakt von Verdauungsflüssigkeit auf durch verschiedene Verfahren gewonnene Hämatine ausüben kann.

Ich gehe nun zur Beschreibung der spektroskopischen Eigenschaften des erhaltenen Hämatins über.

1. Alkalische Lösung. Das Spektrum der alkalischen Lösung schwankt nicht nur je nach der verschiedenen Konzentration, sondern vor allem je nach dem Grad der Alkalescenz der Lösung selbst. Man bekommt nämlich unabhängig von dem Hämatingehalt einer gegebenen Lösung einen oder mehrere Absorptionsstreifen in verschiedenen Lagen, je nachdem sich das Hämatin in einer schwächeren oder stärkeren Alkalilösung gelöst findet. Um eine genaue Vorstellung von diesem Verhalten zu bekommen, habe ich eine gewisse Hämatinmenge bei Anwesenheit der geringst möglichen Kaliumhydroxydmenge gelöst und dann durch tropfenweises Zusetzen konzentrierter Kalilauge die Alkalescenz der Hämatinlösung selbst erhöht,

ohne daß sie zugleich erheblich verdünnt wurde. Eine kleine Menge des Produktes mischte ich in einem Reagensröhrchen mit 5 ccm destilliertem Wasser und setzte wenige Tropfen einer stark verdünnten (0,10 $^0/_0$) Kalilauge zu. Unter diesen Verhältnissen löste sich das Hämatin etwas schwierig, doch gelang es stets in kurzer Zeit, unter leichtem Erwärmen und Umrühren der Flüssigkeit mit einem Glasstab eine Lösung von ziemlich intensiv roter Farbe zu erhalten. Filtriert und in einer Dicke von 10 mm mit dem Spektralapparat untersucht, zeigte dieselbe einen schmalen Absorptionsstreifen mit ziemlich scharfen Rändern zwischen *C* und *D*, ganz nahe bei *C*, fast in der gleichen Lage des Absorptionsstreifens des Hämatins in saurer Lösung. Man beobachtete sodann eine diffuse Absorption, welche zwischen *D* und *E* in kurzer Entfernung von *D* begann und sich gegen den rechten Teil des Spektrums hin erstreckte, welcher von *E* an vollkommen verdunkelt war. Bei Zusatz einiger weiteren Tropfen der 0,10 $^0/_0$igen Kalilauge trat keinerlei Änderung ein, wurden aber 2 Tropfen einer 10 $^0/_0$igen Lösung zugesetzt, so bekam man sofort eine Virage des Spektrums, insofern der Absorptionsstreifen leicht nach dem rechten Teil des Spektrums hinrückte, derart, daß er sich stets zwischen *C* und *D*, aber näher bei *D* befand, welches nicht erreicht wurde. Zwischen *D* und *E* begann eine diffuse Absorption, welche sich gegen das rechte Ende des Spektrums hin fortsetzte; ihr Anfang aber war im Vergleich zu dem vorausgehenden Spektrum gleichfalls leicht nach rechts gerückt. Bei Zusatz einiger weiteren Tropfen 10 $^0/_0$iger Kalilauge änderten sich die Dinge nicht; wurden aber 3 bis 4 Tropfen einer 50 $^0/_0$igen Lösung zugesetzt, so trat, während der eben erwähnte Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D* sich weder der Lage noch der Stärke und Breite nach änderte, ein weiterer zwischen *D* und *E*, fast in unmittelbarer Nähe von *D* auf. Die Stärke dieses Streifens war bedeutend geringer als der erste, seine Ränder waren verschwommen und ungewiß, die Breite gleich der des links von *D* liegenden Streifens, mit dem er durch einen schmalen, leicht verdunkelten Raum verbunden war. Ebenfalls setzte sich dieser zweite Streifen rechts von *D* in eine diffuse Absorption fort, welche immer stärker wurde, bis zur vollständigen Verdunkelung des Spektrums in der Nähe von *F*. Durch weiteren Zusatz

konzentrierter Kalilauge änderte sich das Spektrum nicht. Diese aufeinander folgenden Untersuchungen wurden unter Konstantbleiben der Intensität der Lichtquelle und der Weite der Lichtspalte des Spektroskops gemacht. Mit stärkeren ebenfalls stark alkalischen Hämatinlösungen wurden die zwei eben beschriebenen Absorptionsstreifen stärker und schärfer begrenzt, und wenn die Lösung stark gefärbt war, sah man an Stelle der beiden Streifen einen einzigen breiten Streifen, welcher sich von einer auf die andere Seite von *D* erstreckte, welche Linie ungefähr mit der Achse des Streifens selbst zusammenfiel.

Bei Behandlung der alkalischen Hämatinlösung mit Schwefelammonium wurde, gleichgültig welches der Konzentrations- und Alkalescenzgrad der Lösung selbst war, stets ein und dasselbe Spektrum erhalten, bestehend aus zwei Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*, von denen der näher bei *D* gelegene intensiver war mit fast scharfen Rändern; der andere war von geringerer Stärke, kaum erkennbar bei den schwachen Lösungen oder bei den bei schwacher Dicke untersuchten stärkeren Lösungen. Die intensiv gefärbten Hämatinlösungen zeigten außerdem eine diffuse Absorption des rechten Teiles des Spektrums in Fortsetzung mit dem näher bei *E* gelegenen Absorptionsstreifen.

Bei Zusatz einiger Tropfen einer Cyankaliumlösung zu der alkalischen Hämatinlösung wurde, welches auch ihre Konzentration und der Alkalescenzgrad sein mochte, konstant ein breiter Absorptionsstreifen mit sehr verschwommenen Rändern erhalten, welcher fast den ganzen Raum zwischen *D* und *E* einnahm, aber weder die eine noch die andere Linie erreichte, neben einer diffusen Absorption des rechten Teiles des Spektrums bei den ziemlich gefärbten Hämatinlösungen.

Wurde sodann die alkalische Hämatinlösung, die mit Cyankalium versetzt worden war, mit Schwefelammonium behandelt, so beobachtete man bei starker Dicke (10 mm) zwei Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*; der linke, näher bei *D*, war etwas weniger stark als der rechte, schmäler, mit schärferen Rändern, während der Streifen näher bei *E* breiter, intensiver mit mehr verschwommenen Rändern, so daß die Abtönung seines rechten Randes etwas über *E* hinausging. Die diffuse Absorption begann in dem äußersten rechten Abschnitt des

Spektrums nach *F*. Bei Untersuchung derselben Lösung bei geringerer Dicke sah man deutlich die beiden Streifen zwischen *E* und *F*; sie waren fast von der gleichen Stärke, der rechte etwas breiter, erreichte aber nicht *E*. Beide Streifen erschienen bei dieser Beobachtung etwas schmäler als bei der vorausgehenden Beobachtung.

2. Saure alkoholische Lösung. Das Spektrum ist ausgezeichnet durch nur einen Absorptionsstreifen mit fast scharfen Rändern zwischen *C* und *D*, sehr nahe bei *C*, und dann durch eine diffuse Absorption des rechten Teiles des Spektrums.

3. Saure wässerige Lösung. Bei einigen Versuchen unterwarf ich das Blut einer längeren Verdauung, als ich oben anführte.

Sobald sich der Hämatinsatz bildete und die darüber stehende Flüssigkeit farblos war, trennte ich die beiden Schichten durch Dekantieren und gab zu dem Präcipitat neue Verdauungsflüssigkeit und dies alle 24 Stunden. Nach einigen Tagen blieb die darüber stehende Flüssigkeit dauernd intensiv rot gefärbt, während der Hämatinniederschlag bedeutend verringert war. Nach Filtrieren dieser Flüssigkeit, welche übrigens ziemlich klar war, bekam man bei der spektroskopischen Untersuchung dasselbe Spektrum des Hämatins in saurer alkoholischer Lösung, auf das weiter oben hingewiesen wurde. Nach Alkalinischmachen erschien das Spektrum des alkalinischen Hämatins, und bei der nachfolgenden Behandlung mit Schwefelammonium trat das Spektrum des Hämochromogens auf. Es besteht daher kein Zweifel darüber, daß ein Teil des Hämatins infolge des längeren Kontaktes mit der salzsauren Pepsinlösung in Lösung gegangen ist (echte Lösung oder kolloidaler Zustand?).

4. Neutrale Lösung. Im Gegensatz zu dem, was allgemein behauptet wird, lösen sich sowohl mein Hämatin als das des Handels in Alkohol und Chloroform; es lassen sich daher so neutrale Hämatinlösungen erhalten. Mein Hämatin löst sich etwas schwer in den erwähnten Flüssigkeiten, doch wird stets nach kurzer Zeit, in der das Produkt in der Flüssigkeit geschüttelt wird, eine ziemlich intensiv gefärbte klare Lösung erhalten, welche ein sehr deutliches Spektrum gibt. Das Mercksche Hämatin löst sich rasch in den beiden erwähnten Lösungsmitteln und auch in Äther. Das Spektrum der Chloro-

formlösung ist vollkommen gleich dem der sauren alkoholischen Lösung und der sauren wässerigen Lösung, d. h. man sieht einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D* in der gleichen Lage und von der gleichen Breite und Stärke, wenn die Untersuchung mit Lösungen von gleichem Färbungsgrade gemacht wird, und sodann eine diffuse Absorption, welche zwischen *D* und *E* beginnt. Die alkoholische Lösung gibt ein identisches Spektrum, aber sowohl der Streifen zwischen *C* und *D*, wie der Anfang der diffusen Absorption haben eine ganz geringe Verschiebung nach rechts erfahren. Das Verhalten meines Hämatins ist in dieser Hinsicht vollkommen dem des Hämatins des Handels analog.

Die bis hierher hervorgehobenen spektroskopischen Eigenschaften machen einige kurze Bemerkungen notwendig. Was zunächst das Verhalten der alkalischen Lösung angeht, so weicht das Spektrum oder besser die Spektren von dem Spektrum, welches die Autoren im allgemeinen von dem Hämatin in alkalischer Lösung geben, ab. Alle stimmen darin überein, daß die spektroskopischen Eigenschaften des Hämatins wenig konstant und schlecht definierbar sind, derart, daß man die spektroskopische Diagnose des Hämatins auf sein Verhalten gegenüber den reduzierenden Agenzien (Bildung von Hämochromogen) zu stützen pflegt. Nichtsdestoweniger pflegt für das Hämatin in alkalischer Lösung von den Autoren ein Spektrum gegeben zu werden, welches ausgezeichnet ist durch einen einzigen Absorptionsstreifen in Gelb, der, in der Mitte des *C* und *D* trennenden Raumes beginnend, bis an letztere Linie reicht und etwas über sie hinausgeht, und außerdem durch eine diffuse Absorption des Violett und des ganzen rechtes Teiles des Spektrums. Das von dem von mir dargestellten Hämatin gegebene Spektrum war ein anderes. Der Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D* war schmäler und reichte nie bis an *D*. Der von mir unter bestimmten Verhältnissen (siehe oben) weiter nach links, in der Nähe von *C*, beobachtete Streifen ist von keinem Autor für das Hämatin in alkalischer Lösung angegeben. Ebensowenig ist der Absorptionsstreifen rechts in der Nähe von *D* erwähnt und auch nicht der breite, rechts und links von *D* sich ausbreitende Absorptionsstreifen, welche Linie fast seine Achse darstellt. Ein Spektrum, das durch die bei starker

Dicke untersuchten konzentrierten und stark alkalischen Lösungen meines Hämatins gegeben wurde. Nichtsdestoweniger kann ich dieses Spektrum nicht als speziell für das von mir dargestellte Hämatin ansehen, da das des Handels (Merck) sich fast analog verhält. Letzteres Hämatin gibt in schwach alkalischer Lösung einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*, welcher nicht bis an *D* reicht, und läßt, bei starker Dicke und mittlerer Konzentration untersucht, einen weiteren Streifen zwischen *D* und *E*, in fast unmittelbarer Nähe von *D*, erkennen. Bei Zusatz einiger Tropfen einer sehr konzentrierten Kalilauge zu der nämlichen Lösung erscheint der letzterwähnte Absorptionsstreifen rechts von *D* evident, so daß man dasselbe Bild bekommt, welches die Lösung des von mir dargestellten Hämatins bietet. Im Spektrum, der auch ganz schwach alkalischen Lösung des Merckschen Hämatins gelang es mir nicht, den bei meinem Hämatin rechts und in der Nähe von *C* bemerkten Absorptionsstreifen zu sehen.

Eine Eigentümlichkeit scheint mir indessen von Interesse hervorzuheben, die meines Wissens von den Autoren nicht bemerkt worden ist, und zwar ist dies der Einfluß, den der Grad der Alkalescenz auf die Variationen des Hämatinspektrums ausübt. Wie oben beschrieben wurde, lassen sich in einer ganz schwach alkalischen Lösung die Änderungen verfolgen, die das Anfangsspektrum durch den Zusatz progressiv steigender Alkalimengen erfährt.

Was das Spektrum des von mir dargestellten Hämatins in saurer alkoholischer Lösung angeht, so beobachtete ich, wie erwähnt, konstant nur einen der von den Autoren angegebenen Absorptionsstreifen, welcher am charakteristischsten ist, nämlich den zwischen *C* und *D*, in der Nähe von *C*; denn, wie bekannt, sind in dem Spektrum des Hämatins in saurer Lösung 5 Absorptionsstreifen beobachtet worden. Auch das Mercksche Hämatin gibt, wie mein Hämatin, in saurer alkoholischer Lösung nur einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*.

Bemerkenswert ist sodann das Verhalten des Hämatins mit Alkohol und Chloroform. Auch das von v. Zeynek bereitete Hämatin war in Alkohol, weniger in Chloroform löslich.

Es handelt sich um Hämatinlösungen in neutralen Flüssigkeiten, welche ein von dem von Arnold für das neutrale

Hämatin beschriebenen abweichendes Spektrum geben. Dieser Autor sah, als er eine alkoholische Hämatinlösung mit Kalilauge alkalisch machte, daß in dem Augenblick, wo die Reaktion neutral wurde, die braune Färbung der Flüssigkeit in Rot umschlug, ein kleiner Teil des Hämatins gefällt wurde und der größte Teil in neutraler alkoholischer Lösung blieb. Das neutrale Hämatin gibt nach Arnold in geeigneter Verdünnung ein Spektrum, welches durch zwei Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* ausgezeichnet ist, die von denen des Oxyhämoglobins dadurch abweichen, daß sie etwas nach rechts verschoben sind und der Streifen rechts stärker und scharfrändiger ist als der links im Gegensatz zu dem Spektrum des Oxyhämoglobins. Meine Beobachtungen lassen erkennen, daß das Hämatin in neutraler Lösung auch ein identisches Spektrum wie das saure Hämatin geben kann.

Schließlich erkennt man aus der oben mitgeteilten spektroskopischen Untersuchung, daß die alkalische Lösung meines Hämatins bei Zusatz von Schwefelammonium das charakteristische Spektrum des reduzierten Hämatins gibt und entsprechend behandelt die Spektren des Cyanhämatins und des reduzierten Cyanhämatins liefert wie jedes andere Hämatin.

Es bleibt mir jetzt nur noch übrig, einiger anderer Eigentümlichkeiten Erwähnung zu tun.

Die Anwesenheit der Chlorwasserstoffsäure in der Verdauungsflüssigkeit ist zur Bildung des Hämatins nicht notwendig; dies wird durch Einwirkung des Pepsins in Gegenwart jeder beliebigen anderen Säure erhalten. Ich habe Schwefelsäure, Milchsäure, Essigsäure und auch Salicylsäure versucht. Wie ich bei Besprechung des chemischen Teiles hervorhob, gelangt man bei Substitution der Salzsäure mit Schwefelsäure stets zu einem Hämatin, welches fast den gleichen Prozentgehalt an Stickstoff zeigt, wie das bei Gegenwart von Salzsäure erhaltene, und dieselben spektroskopischen Eigenschaften besitzt. Bringt man in der Verdauungsflüssigkeit Salz-, Milch- und Essigsäure zusammen (Anagr. $2\,^0/_{00}$), so wird ebenfalls ein analoges Hämatin erhalten, wie das bei bloßer Gegenwart von Salzsäure gewonnene, und nicht salzsaures Hämatin, wie einige behauptet haben.

Ich habe auch die Vorgänge untersuchen wollen, die ein-

treten, wenn Blut mit einer Säure bei Abwesenheit von Pepsin in Kontakt gebracht wird, und habe das Blut mit einer 2 bis 4 ‰ Salzsäure und 1 ‰ Kochsalz enthaltenden Lösung gemischt, worauf ich die Mischung im Ofen bei 38° C stehen ließ. Unter diesen Bedingungen wird einerseits ein rotbraunes Sediment, welches das Aussehen des Hämatins hat und auch dessen spektroskopische Eigenschaften zeigt, und andererseits eine darüber stehende stark rot gefärbte Flüssigkeit erhalten, welche sich bei der spektroskopischen Untersuchung wie folgt verhält. Bei starker Dicke (10 mm) und mäßiger Konzentration bemerkt man einen intensiven schmalen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D* in unmittelbarer Nähe von *C* mit scharfem rechtem Rand, während der linke in eine leichte diffuse Absorption übergeht, welche den ganzen Anfangsraum des Spektrums einnimmt. Man bemerkt sodann eine diffuse Absorption, welche zwischen *D* und *E* beginnt und sich gegen das rechte Ende des Spektrums hin fortsetzt. Bei Untersuchung der Flüssigkeit bei geringerer Dicke ist der Streifen nicht mehr sichtbar; dasselbe tritt ein, wenn man die Flüssigkeit bei starker Verdünnung untersucht.

Bei einigen Proben erscheint der angegebene Absorptionsstreifen leicht nach rechts, d. h. gegen *D* verschoben.

Je größer der Säuregehalt der Flüssigkeit ist, desto genauer nimmt der Absorptionsstreifen die zuerst beschriebene Lage ein, welche die dem Spektrum des Methämoglobins in verdünnter Lösung entsprechende ist. Bei Alkalischmachen der Flüssigkeit und Zusatz von Schwefelammonium verschwindet der eben erwähnte Streifen und tritt der zwischen *D* und *E* auf, welcher das Spektrum des Hämoglobins charakterisiert.

Die eben beschriebenen spektroskopischen Eigenschaften entsprechen denen des Methämoglobins, und es ist vor allem demonstrativ das Auftreten des Absorptionsstreifens des Hämoglobins unter dem Einfluß der reduzierenden Agentien, so wie für das Hämatin die positive Hämochromogenprobe charakteristisch ist.

Nur ist gegenwärtig zu halten, daß die Bedingungen, unter denen in meinem Fall die Bildung dieses Derivates des Oxyhämoglobins stattgefunden hat, nämlich Behandlung des Blutes mit einer schwachen Salzsäurelösung, verschieden sind von denen,

unter welchen sich das Methämoglobin zu bilden pflegt, welches unter dem Einfluß verschiedener oxydierender (Ozon, Jod, Chlorate, Permanganate, Ferricyankalium usw.) oder reduzierender Agenzien (Wasserstoff, Pyrogallol usw.) oder verschiedener anderen Substanzen (Anilin, Toluidin usw.) entsteht. Andererseits ist daran zu erinnern, daß unter dem vorübergehenden Einfluß schwacher organischer Säuren oder stark verdünnter Mineralsäuren ein anderes Derivat des Oxyhämoglobins entsteht, welches ein Zwischenprodukt zwischen diesen und dem Hämatin darstellt und das bereits von Hoppe-Seyler, Stokes, Preyer und Straßburg erkannte und mit Methämoglobin zusammengeworfene Acidhämoglobin ist, das aber nach den Untersuchungen von Harnack heutzutage als eine besondere Substanz betrachtet wird. Dasselbe gibt ein analoges Spektrum wie das Methämoglobin, ist jedoch noch nicht genau untersucht worden, und man weiß nicht, ob es, mit den reduzierenden Agenzien behandelt, sich ebenso wie das Methämoglobin verhält (Cohnheim). Da jedenfalls in meinem Versuch die Substanz dadurch erhalten wurde, daß das Blut mit einer schwachen Mineralsäurelösung zusammengebracht wurde, und sie das Spektrum des Methämoglobins zeigt, welche das nämliche des Acidhämoglobins ist, so halte ich es für wahrscheinlicher, daß es sich, anstatt um Methämoglobin um Acidhämoglobin handelt.

Schlußsätze.

Folgende Tatsachen sind durch die vorliegenden Untersuchungen zu Tage getreten:

Unter dem Einfluß des Pepsins in saurer Lösung auf Blut wird ein Hämatin erhalten, welches den spektroskopischen Eigenschaften nach im allgemeinen den auf andere Weise dargestellten Hämatinen entspricht, aber sich von ihnen vor allem dadurch unterscheidet, daß sein Molekül eine geringere Menge Stickstoff enthält. Dieses neue Produkt entspricht der Formel $C_{32}H_{38}N_2FeO_7$ und stellt wahrscheinlich die erste Vereinfachungsphase des Hämatinmoleküls durch die Pepsinverdauung vor.

Mit dieser Methode wird das Hämatin nicht nur bei Anwesenheit von Salz- oder Schwefelsäure, sondern auch von organischen Säuren allein oder mit Mineralsäuren zusammen erhalten.

Durch Einwirkung der erwähnten Säuren bei Abwesenheit von Pepsin bildet sich Hämatin und Acidhämoglobin.

Der Alkalescenzgrad der Hämatinlösungen beeinflußt in hohem Maße die Variationen des Spektrums, und gleichzeitig weisen meine Beobachtungen für das alkalische Hämatin spektroskopische Eigentümlichkeiten nach, die von anderen Autoren nicht erwähnt worden sind.

Das in neutralen Flüssigkeiten (Alkohol, Chloroform) gelöste Hämatin gibt ein von dem durch Arnold beobachteten verschiedenes und mit dem des sauren Hämatins identisches Spektrum.

Unter bestimmten Bedingungen kann dasselbe Spektrum von alkalischen, sauren und neutralen Hämatinlösungen gegeben werden.

Das durch eine längere Verdauung modifizierte Hämatin erlangt die Eigenschaft, in Wasser löslich zu sein.

Literatur.

A. Kowarsky, in dem Lehrb. der klin. Untersuchungsmeth. von Eulenburg. Kolle u. Weintraud.

Klopstock u. Kowarsky, Praktic. d. klin., chem., mikroskop. u. bakteriol. Untersuchungmeth. 1904.

Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem. 1906.

Küster, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 185, 1900 u. 40, 391, 1904.

Nencki u. Zaleski, ibid. 30, 1900.

v. Zeynek ibid. 30, 1900.

Vila et Viettre, Atti del VI. Congr. int. di Chim. appl. 5, Roma 1907.

Borri, Spettri di assortimento dell' emoglobina e dei suoi derivati. Modena 1902.

Arnold, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 1900.

Cohnheim, Chem. d. Eiweißkörper, 2. Aufl., 1904.

Beilstein, Handb. d. organ. Chem., 3. Aufl., 1899, S. 1618.

Beilstein, Ergänzungsbände zur 3. Aufl. d. Handb. 1906.

Salkowski, Praktic. d. physiol. u. pathol. Chem., 3. Aufl., 1906.

Die photodynamische Wirkung des Chlorophylls und ihre Beziehung zur photosynthetischen Assimilation der Pflanze.

Von

Walther Hausmann.

(Aus dem physiologischen Institute der Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 1. Februar 1909.)

Die bekannten Untersuchungen H. v. Tappeiners und seiner Schüler über die photodynamische[1]) Wirkung fluorescierender Substanzen ließen es wünschenswert erscheinen, auch die fluorescierenden Farbstoffe der Pflanze und des Tieres in dieser Richtung zu studieren.

Ganz besonders schien es wichtig, den Hauptrepräsentanten der Fluorescenz in der Pflanze, das Chlorophyll, zu untersuchen, da man hoffen konnte, durch Nachweis photodynamischer Erscheinungen grüner Pflanzenauszüge eine Reihe von Problemen der Pflanzenphysiologie mit leicht ausführbarer Methodik anzugehen.

Vor kurzem konnte ich an dieser Stelle[2]) zeigen, daß methylalkoholische Extrakte grüner Pflanzen intensiv photodynamisch auf rote Blutkörperchen wirken. Versetzt man Sus-

---

[1]) In dieser Mitteilung ist — entgegen den beiden letzten in dieser Zeitschr. 14, 275 u. 15, 12 — die ursprüngliche Bezeichnung v. Tappeiners „photodynamisch" beibehalten worden, um hierdurch Verwechslungen mit der, photographische Platten sensibilisierenden Wirkung des Chlorophylls zu vermeiden. — Eine ausführlichere Publikation der vorliegenden Arbeit erfolgt in Pringsheims Jahrbüchern f. wissenschaftl. Botanik.

[2]) Diese Zeitschr. 12, 331, 1908.

pensionen von gewaschenen roten Blutkörperchen mit den methylalkoholischen Auszügen grüner Blätter, so kommt es in den belichteten Proben zu Hämolyse, während die unbelichteten dies nicht zeigen. —

Die photodynamische Wirkung grüner Pflanzenauszüge ließ sich unschwer auch mit Paramäzien nachweisen. In einer vor kurzem an dieser Stelle mitgeteilten Arbeit habe ich gemeinschaftlich mit W. Kolmer[1]) darauf hingewiesen, daß man ohne weiteres Paramäzien zum Nachweis photodynamischer Wirkungen auch bei alkohollöslichen Substanzen benützen kann. Es war gezeigt worden, daß die Paramäzien durch den Alkohol nicht so geschädigt werden, daß nicht die Anstellung solcher Sensibilisationsversuche möglich wäre. Betreffs aller Einzelheiten muß auf die eben erwähnte Arbeit verwiesen werden.

So zeigte sich nun ohne weiteres auch bei Paramäzien, wie schon bemerkt, die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenextrakte. Im Dunkeln blieben die Paramäzien, die vor allem durch sorgfältige Neutralisation der Auszüge vor der freien Säure geschützt werden müssen, am Leben, während sie im Lichte, im Sonnenlichte sowohl, wie im hellen diffusen Tageslichte zugrunde gingen.

Schon in der ersten Mitteilung über diesen Gegenstand habe ich darauf hingewiesen, daß allem Anscheine nach das Chlorophyll der Träger der photodynamischen Eigenschaften oder wenigstens einer der Träger dieser sensibilisierenden Wirkung der alkoholischen Auszüge ist. R. Willstätter[2]) ist es nun gelungen, Chlorophyll krystallisiert zu erhalten. Durch Versuche mit diesem Präparate gelang es nachzuweisen, daß in der Tat das Chlorophyll zum mindesten eine der Substanzen ist, welche diese photodynamische Wirkung grüner Pflanzenauszüge hervorruft.

Ich verdanke Herrn Professor Willstätter krystallisiertes Chlorophyll und möchte ihm auch an dieser Stelle nochmals

---

[1]) W. Hausmann u. W. Kolmer, Über die sensibilisierende Wirkung pflanzlicher und tierischer Farbstoffe auf Paramäzien. Diese Zeitschr. 15, 12, 1908.

[2]) R. Willstätter, Untersuchungen über Chlorophyll. VI. R. Willstätter u. M. Benz, Über krystallisiertes Chlorophyll. Liebigs Annalen 358, 267, 1908.

herzlichst für Überlassung der kostbaren Substanz danken. Aus den nachstehenden Tabellen geht deutlichst die ganz enorme photodynamische Kraft des krystallisierten Chlorophylls hervor.

Die Versuche sind an kalten Wintertagen zum Teil ohne besonderen Schutz gegen die strahlende Wärme ausgeführt. In anderen Versuchen habe ich mich davon überzeugt, daß es sich hier nicht um Wirkung der strahlenden Wärme handelt. In diesen von physiologischen Gesichtspunkten aus unternommenen Untersuchungen kam es mir in erster Linie darauf an, zu zeigen, daß durch irgend einen Anteil des Spektrums diese Wirkung natürlich bei Ausschluß von Erwärmung hervorgerufen werde. Wie schon bemerkt, ist durch andere Versuche, bei denen Wärmestrahlenfilter vorgelegt wurden, nachgewiesen, daß der ultrarote Anteil des Spektrums bei dieser Chlorophyllwirkung nicht beteiligt ist. Daß übrigens ultrarote Strahlen auch assimilatorisch wirken können, scheint auch durch Untersuchungen von Engelmann[1]) an Purpurbakterien hervorzugehen. Bei unserer Versuchsanordnung, bei welcher die Paramäzien in Reagensröhrchen gehalten wurden, sind die Paramäzien überhaupt nicht sehr empfindlich gegen die strahlende Wärme, wenn nur direkte Erwärmung vermieden wird. Bei dem hämolytischen Versuche spielt dies eine noch geringere Rolle.

Die Paramäzienaufschwemmung war durch Kultur aus Heuinfus gewonnen. Sodann wurde durch Aufsteigenlassen in langen Röhren die mit Leitungswasser verdünnten Paramäzien gereinigt.

Die Menge der Chlorophyllösung in Kubikzentimetern, die in der ersten Kolumne der nachfolgenden Tabellen angegeben ist, bezieht sich immer auf die vor der Teilung in der ganzen Probe vorhandene Menge, ebenso wurden 5 ccm Paramäzienaufschwemmung oder Blutkörperchensuspension im ganzen bei jeder Probe verwendet.

Versuche mit Paramäzien.

I.

Versuch mit einer 0,05 % Lösung von krystallisiertem Chlorophyll in Methylalkohol, am 17./XI. 1908. Sonne. Nach

[1]) Th. W. Engelmann, Die Purpurbakterien und ihre Beziehung zum Lichte. Bot. Ztg. 1888, 661.

dem Zusatz der Chlorophyllösung zu der Paramäzienaufschwemmung wurden die Proben geteilt, der eine Teil belichtet, der andere im Dunkeln gehalten.

Menge der 0,05 % Chlorophyllösung in ccm	Menge der Paramäzienkultur in ccm	Bemerkung im Lichte	Bemerkung im Dunkeln
0,2	Überall je 5 ccm	Nach 2 Minuten alle Paramäzien tot	Nach 72 Stunden in allen Proben zahlreiche Paramäzien am Leben
0,1		nach 7′ tot	
0,05		nach 8′ tot	
0,03		nach 10′ tot	
0,01		nach 13′ tot	
Von der Lösung wird 0,1 auf 10 ccm 0,9 % NaCl-Lösung verdünnt, davon in ccm			
0,5		nach 20′ tot	
0,3		nach 60′ tot	
0,1		bleiben anscheinend ungeschädigt	

Die mit Methylalkohol allein im Licht und Dunkeln angesetzten Paramäzien blieben ungeschädigt.

II.

Versuch mit einer 0,05 % Lösung von krystallisiertem Chlorophyll in Methylalkohol am 21./XII. 1908. Sehr trüber Tag. Die Belichtung erfolgt hinter Doppelfenstern nach Süden auf weißer Unterlage. Nach dem Zusatz des Chlorophylls werden die Proben geteilt, die eine Hälfte belichtet, die andere im Dunkeln gehalten.

Menge der Chlorophylllösung in ccm	Menge der Paramäzienaufschwemmung in ccm	Bemerkung im Lichte	Bemerkung im Dunkeln
1. 0,2	Überall je 5 ccm	Nach 3 Stunden alle Paramäzien tot	Nicht geschädigt nach 8 Stunden
2. 0,1		nach 3 Stunden tot	
3. 0,05		nach 3 Stunden sehr geschädigt	
4. 0,03		nach 3 Stunden sehr geschädigt	
5. 0,01		nach 3 Stunden nicht geschädigt	

Die Proben blieben bis zum nächsten Tage, der ebenfalls trüb war, bis um $^1/_2$10 Uhr früh am Fenster stehen. In Nr. 3 u. 4 waren alle Paramäzien verendet, in Nr. 5 viele am Leben. Die mit Methylalkohol angesetzten Kontrollproben ohne Chlorophyll im Lichte und im Dunkeln am Leben. In der im Dunkeln belassenen Hälfte des Chlorophyllversuches waren die Tiere scheinbar ungeschädigt.

Versuche mit roten Blutkörperchen.

Es kam zur Verwendung eine 1 % Aufschwemmung viermal gewaschener roter Kaninchenblutkörperchen. In einigen Fällen wurde auch Rinderblut verwendet. Aus der großen Reihe der Versuche seien zwei wiedergegeben.

I.

Versuch mit einer 0,05 % Lösung von krystallisiertem Chlorophyll in Methylalkohol am 17./XI. 1908. Sonne. Nach dem Zusatz der Chlorophyllösung wurden die Proben geteilt, der eine Teil belichtet, die andere im Dunkeln belassen. Viermal gewaschene rote Kaninchenblutkörperchen.

Menge der Chlorophyllösung in ccm	Menge der 1 % Blutkörperchensuspension	Bemerkung im Lichte	Bemerkung im Dunkeln
0,5	Überall je 5 ccm	komplette Hämolyse nach 7 Minuten	keine Hämolyse nach 5 Stunden
0,1		nach 3′	
Von dieser Lösung wird 0,1 ccm auf 10 ccm 0,9 % NaCl-Lösung verdünnt. Lösung a, davon in ccm			
0,5		komplette Hämolyse nach 9 Minuten	
0,3		nach 10′	
0,1		nach 30′	
Von der Lösung a 1 ccm auf 10 ccm 0,9 NaCl aufgefüllt, davon in ccm			
0,5		komplette Hämolyse nach 60 Minuten	
0,3			
0.1		keine Hämolyse nach 60′	

Ich möchte hier bemerken, daß bei diesem, ebenso wie in noch einigen ganz vereinzelten Versuchen die Kontrolle mit 0,5 ccm Methylalkohol nach mehrstündiger Belichtung hämolytisch wurde. Da dies nur ganz vereinzelt auftrat, so ist es wohl auf Verunreinigung zurückzuführen, eventuell auf eingetretene Erwärmung. In Betracht käme diese an sich minimale Wirkung nicht. Zudem habe ich in Verein mit W. Kolmer gezeigt, daß Alkohol sogar imstande ist, die photodynamische Wirkung des Eosins abzuschwächen.

II.

Versuch mit einer 0,05 % Lösung von krystallisiertem Chlorophyll in Methylalkokol am 13./I. 1909. Sehr trüber Himmel, partielle Schneedecke. Die Belichtung erfolgt hinter Doppelfenstern nach Süden auf weißer Unterlage. Nach dem Zusatze des Chlorophylls wurden die Proben geteilt, die eine Hälfte belichtet, die andere im Dunkeln belassen. Viermal gewaschene rote Kaninchenblutkörperchen.

Menge der Chlorophyllösung in ccm	Menge der 1 % Blutkörperchensuspension	Bemerkung	
		im Lichte	im Dunkeln
1. 0,3 2. 0,1 Von dieser Lösung 0,1 ccm auf 10 ccm NaCl 0,9 % verdünnt, davon 3. 0,5 4. 0,3 5. 0,1	Überall je 5 ccm	Nach $1^1/_2$ Stunden in Probe 1 deutliche Hämolyse, Proben 2 bis 4 fraglich, Probe 5 negativ; nach $2^1/_2$ Stunden Probe 1 und 2 komplette Hämolyse, Probe 3 fast ganz komplett, Probe 4 deutlich, Probe 5 keine Hämolyse	Keine Hämolyse nach 7 Stunden

Die Kontrollen mit Methylalkohol 0,5, 0,1 im Lichte und im Dunkeln negativ.

Es ist demnach die photodynamische Wirkung des krystallisierten Chlorophylls in den großen Verdünnungen von 1 : 3 Millionen bei trübem Tageslichte noch aufgetreten.

Ich möchte an dieser Stelle darauf hinweisen, daß ich mir sehr wohl bewußt bin, daß wir bei Verwendung alkoholischer

Pflanzenauszüge und auch des krystallisierten Chlorophylls kaum je ein Chlorophyll in der Form werden untersuchen können, in welcher es in der lebenden Pflanze selbst vorhanden ist. Völlig sicher gestellt ist es jedoch durch unsere Untersuchungen, daß der grüne fluorescierende Anteil der Auszüge zu mindest einer der Träger der oben beschriebenen Wirkung darstellt, daß also der grüne Farbstoff an sich die photodynamische Wirkung auszuüben imstande ist.

Es konnte nun die Frage entstehen, ob nicht etwa durch Vorbelichtung des Chlorophylls ein Körper entstehe, der an sich erst die giftigen Eigenschaften, die eben beschrieben wurden, entfaltet hätte, wie man dies auch Tappeiners Versuchen mit Unrecht entgegen gehalten hatte. Aus zahlreichen Versuchen, von denen hier nur zwei mitgeteilt werden sollen, geht deutlich hervor, daß dies nicht der Fall ist, sondern daß zum Zustandekommen dieser Wirkung das gleichzeitige Einwirken von Chlorophyll auf Blut oder Paramäzien im Lichte nötig ist.

Die Versuche wurden so angestellt, daß die vorbelichtete Probe denselben Gehalt an Chlorophyll hatte, wie die der photodynamischen Versuche, da bei Vorbelichtung der konzentrierten Chlorophyllösung wegen zu starker Färbung die Wirkung der Strahlen besonders im Inneren der Eprouvette hätte verhindert werden können.

I. Vorbelichtungsversuch mit roten gewaschenen Kaninchenblutkörperchen.

Zu derselben Zeit und unter denselben Belichtungsverhältnissen wie bei Versuch I, mit roten Blutkörperchen wurden 0,1 und 0,2 ccm der 0,05 $^0/_0$ Chlorophyllösung gemischt mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung durch $^3/_4$ Stunden der Sonne ausgesetzt, ebenso in anderen Eprouvetten 2 Proben von je 5 ccm der 1 $^0/_0$ Blutkörperchensuspension. Hierauf wurden zu jeder von den belichteten Chlorophyllproben je 5 ccm der ebenfalls vorbelichteten Blutkörperchensuspension zugesetzt. Es trat keine Hämolyse ein. Nun wurden die Proben geteilt und die eine Hälfte belichtet, die andere im Dunkeln belassen. Im Lichte kam es nach wenigen Minuten zu Hämolyse. Die Proben im Dunkeln waren nach 4 Stunden nicht hämolytisch.

II. Vorbelichtungsversuch mit Paramäzien.

Je 0,01, 0,03, 0,05, 0,1 ccm der 0,05 % methylalkoholischen Lösung von krystallisiertem Chlorophyll werden zu je 5 ccm Paramäzienaufschwemmung zugesetzt. Die Proben geteilt, die eine Hälfte belichtet, die andere Hälfte im Dunkeln gelassen. Sehr trüber Tag, 21./XII. 1908, Schneedecke, die Eprouvetten stehen bei der Belichtung hinter Doppelfenstern nach Süden auf weißer Unterlage (photodynamischer Versuch, um zu sehen, ob die Lichtstärke genügend war).

Zu derselben Zeit und auf demselben Eprouvettengestell werden Chlorophyllösungen und davon getrennt Paramäzienaufschwemmungen belichtet. Die Chlorophyllösungen enthalten je 0,02, 0,06, 0,1, 0,2 ccm in je 5 ccm Brunnenwasser (Vorbelichtungsversuch). In den erstgenannten Proben des photodynamischen Versuches sind die in der stärksten Chlorophyllkonzentration befindlichen Paramäzien, die um $^1/_2$11 Uhr exponiert wurden, nach einer Stunde fast alle tot. In den übrigen Proben werden die Paramäzien um 3 Uhr tot gefunden. Die Proben mit 0,05 und 0,1 Methylalkohol bleiben ganz normal. Die Chlorophyllproben im Dunkeln ungeschädigt.

Nun werden zu jeder vorbelichteten Chlorophyllösung je 5 ccm vorbelichtete Paramäzienaufschwemmung zugegeben. Die Paramäzien bleiben am Leben. Am nächsten Morgen werden diese in der vorbelichteten Chlorophyllösung lebenden Paramäzien geteilt, die eine Hälfte belichtet, die andere dunkel gehalten. In der belichteten Probe gehen die Tiere ein, in der Dunkelprobe nicht.

Es wirken übrigens, wie nachdrücklich betont werden soll, durch Sonnenlicht vollständig veränderte chlorophyllhaltige Pflanzenauszüge noch photodynamisch, doch habe ich bisher nicht festgestellt, ob es sich um Reste unveränderten Chlorophylls handelt, was jedoch unwahrscheinlich erscheint. Die Wirkung dieses veränderten Chlorophylls könnte, falls es in der Pflanze überhaupt vorkommt, wegen der geänderten Absorptionsverhältnisse nur in einem anderen Spektralbezirke erfolgen, als die des unveränderten Chlorophylls.

Dies führte nun zu der Fragestellung, wie die Chlorophyllderivate in dieser Richtung sich verhalten. Es war mir durch

die große Freundlichkeit von Herrn Professor Marchlewski, dem ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen möchte, möglich, ein Derivat des Chlorophylls, krystallisiertes Phylloporphyrin, zu untersuchen. Aus der nachfolgenden Tabelle geht hervor, daß auch dieser Körper eine sehr stark photodynamisch wirksame Substanz darstellt.

Versuch.

Lösung von 0,0004 g Phylloporphyrin in 2,5 ccm Methylalkohol, nicht alles gelöst. Verwendet wurde eine 1°/₀ Aufschwemmung gewaschener, roter Blutkörperchen vom Kaninchen. Der Versuch in durch Nebel scheinendem Sonnenlicht unternommen. Die Proben wurden nach dem Zusatz des Phylloporphyrins geteilt, zum Teil belichtet, zum Teil im Dunkeln belassen. Kontrollen mit Methylalkohol.

Menge der zugesetzten Lösung in ccm	Menge der Blutkörperchensuspension in ccm	Bemerkung im Lichte	Bemerkung im Dunkeln
0,5	Überall je 5 ccm	Komplette Hämolyse nach 10′	Keine Hämolyse nach 4 Stunden
0,3		nach 15′	
0,1		nach 25′	
0,05		nach 25′	
0,03		nach 35′	
0,01		nach 1 Stunde	

Nach 5 Stunden beginnen auch die Dunkelproben der zwei stärksten Konzentrationen etwas Hämolyse zu zeigen, die am nächsten Morgen komplett ist. Das Phylloporphyrinpräparat hat also auch im Dunkeln etwas hämolytische Wirkung. Die Kontrollen mit 0,5 und 0,3 ccm Methylalkohol im Hellen und Dunkeln zeigen keine Hämolyse.

Wie ich schon mitgeteilt habe, ist die Fähigkeit, photodynamisch zu wirken, auch bei dem Tierkörper entstammenden Substanzen häufig anzutreffen. Ich konnte zeigen, daß die tierische Galle rote Blutkörperchen zu sensibilisieren vermag, während diese Eigenschaft der Galle bei Paramäzien viel schwerer nachweisbar ist. Weiters konnte ich über die photodynamische Wirkung des Hämatoporphyrins berichten.[1])

[1]) Diese Zeitschr. 14, 275, 1908 u. 15, 12, 1908.

E. Schunk und L. Marchlewski[1]) haben zuerst auf die nahe Verwandtschaft des Abbauproduktes des Chlorophylls, des Phylloporphyrins, mit dem Abkömmling des Blutfarbstoffes, mit dem Hämatoporphyrin hingewiesen. Diese Forscher betonten die große Ähnlichkeit des Spektrums beider Körper. Ebenso hat Nencki[2]) dann auf die Ähnlichkeit der Zusammensetzung beider Körper aufmerksam gemacht. Ganz besonders ist der Nachweis dieser nahen Verwandtschaft Marchlewski[3]) gelungen. Er konnte von dem Phylloporphyrin durch Oxydation direkt zum Anhydrid der Hämatinsäure gelangen und so aus dem Chlorophyllderivate Abkömmlinge des Blutfarbstoffes gewinnen. Ebenso konnte Marchlewski aus Phylloporphyrin Urobilin herstellen.

Wie eben gezeigt wurde, äußert sich diese nahe Zusammengehörigkeit des Hämatoporphyrins und des Phylloporphyrins auch in der, beiden fluorescierenden Substanzen gemeinschaftlichen Eigenschaft der photodynamischen Wirkung.

Es wird nun vor allem die Frage zu beantworten sein, in welchem Zusammenhange die soeben beschriebene photodynamische Wirkung des Chlorophylls mit der photosynthetischen Assimilation grüner Pflanzen steht.

Vorerst soll kurz auf die wahrscheinlichst scheinenden Ausnahmen über die Wirkung des Chlorophylls im Chloroplasten hingewiesen werden.

Die Annahme, daß eine enge Beziehung bestehe zwischen Absorption des Lichtes im Chlorophyllkorn und Assimilation, ist schon im Anfang des vorigen Jahrhunderts gemacht worden. (Dumas 1824, Jul. Robert Mayer 1845, Helmholtz 1854.)[4])

[1]) E. Schunk und L. Marchlewski, Zur Chemie des Chlorophylls. Liebigs Annalen 290, 306, 1896.

[2]) M. Nencki, Über die biologischen Beziehungen des Blatt- und Blutfarbstoffes. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29 III, 2877, 1896.

[3]) L. Marchlewski, Zur Chemie des Chlorophylls. Journal für praktische Chem. 65, 161, 1902.

[4]) In dieser Darstellung sind hauptsächlich folgende Werke benützt worden: Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen 1, Jena 1905; L. Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, Jena 1908, sowie H. Molisch, Der gegenwärtige Stand der Lehre von der Kohlensäureassimilation. Congrès intern. bot. Wien 1905. Ergebnisse 1906, 179.

Lommel hat sich dahin geäußert, „daß die chemische Arbeit in der Pflanzenzelle verrichtet werde durch die lebendige Kraft, welche der Strahl bei der Absorption an die Zelle abgibt".

Becquerel und später Cros zeigten, daß man durch Chlorophyll Jod und Bromsilber für die Bezirke B C des Spektrums sensibilisieren könne.

Ganz besonders hat zuerst Timiriazeff, das Chlorophyll als Sensibilisator im Assimilationsprozesse angesprochen. Engelmann[1]) hat sich dieser Auffassung angeschlossen und das farblose Stroma des Chlorophyllkornes direkt mit der photographischen Platte verglichen und die Wirkung des Chlorophylls mit der der Vogelschen Sensibilisatoren.

Durch meine Versuche ist nun gezeigt, daß das Chlorophyll nicht nur die Eigenschaft der photographischen Sensibilisation hat, sondern daß es auch die photodynamische Wirkung fluorescierender Substanzen, die ja auch von Tappeiner als ein, allerdings von der photographischen ganz verschiedener, Sensibilisationsprozeß aufgefaßt wird, besitzt.

Es muß ganz besonders hervorgehoben werden, daß die photodynamische Wirkung der chlorophyllhaltigen Pflanzenauszüge im Versuche, dem in dem Chlorophyllkorne sich abspielenden Prozesse ungemein nahekommt. Hier wie dort haben wir das im Vergleich zur photographischen Platte lichtunempfindliche Substrat — hier Blut, Paramäzien — dort den ungefärbten Chloroplasten. In beiden Fällen ist das Chlorophyll allein als Energieüberträger anzusehen.

Jost[2]) hat, wie mir scheint, mit vollem Rechte der photographischen Sensibilisationstheorie des Chlorophylls entgegengehalten, daß man die Einwirkung des Chlorophylls auf den an sich nicht assimilationsfähigen Chloroplasten nicht mit der Sensibilisierung lichtempfindlicher Platten vergleichen dürfe, da in einem Falle die lichtempfindliche Substanz mit dem lichtunempfindlichen, ungefärbten Chloroplasten verglichen wurden.

Dieser Einwand entfällt, wie aus den obigen Erörterungen hervorgeht, bei der Annahme einer photodynamischen Wirkung des Chlorophylls in der Pflanze, denn hier ist nur nötig, daß

---

[1]) Th. W. Engelmann, Farbe u. Assimilation. Bot. Zeitg. 1883, 20.
[2]) l. c. S. 151.

das Chlorophyll als Energieüberträger wirkt. Ein anderes lichtempfindliches Substrat ist nicht nötig und in der Tat auch nicht vorhanden.

Es spricht nun eine Reihe wichtiger Beweispunkte dafür, daß die Annahme, das Chlorophyll wirke im Chlorophyllkorn in der Art photodynamischer Sensibilisatoren, wahrscheinlich erscheint. Es soll nun ausgeführt werden, daß

1. die Art des Vorkommens des Chlorophylls im Chlorophyllkorn diesen Prozeß möglich erscheinen läßt.

2. Chlorophyll wirkt in jenen Strahlen photodynamisch, in denen die hauptsächlichste Assimilation der Pflanzen erfolgt.

3. Es scheint auch die Lokalisation photodynamischer Eigenschaften in der Pflanze, soweit ich sie bisher untersuchte, für diese Annahme zu sprechen.

Ad. 1. Kann man annehmen, daß das Chlorophyll ebenfalls in der lebenden Pflanze nach Art der photodynamischen Sensibilisatoren wirkt?[1]) Wir wissen aus den Untersuchungen von v. Tappeiner, daß alle bisher als photodynam bekannten Körper fluorescieren. Es ist weiterhin von v. Tappeiner darauf hingewiesen worden, daß man durch Substanzen, welche die Fluorescenz herabdrücken, auch diese Wirkung herabsetzen kann.

Es wird demnach die Hauptfrage die sein, ob auch das Chlorophyll in der intakten Pflanze fluoresciert. Es scheint nun nach den Angaben der Literatur eine, wenn auch schwache Fluorescenz in der Tat vorzuliegen. Von Lommel wurde jede Fluorescenz der lebenden Blätter in Abrede gestellt. Hagenbach hat die von ihm zuerst nicht beobachtete Fluorescenz später zugegeben. Auch Reinke hat sich schließlich dieser Annahme angeschlossen, die N. J. C. Müller vertreten hatte.[2])

Nun hatte Hansen[2]) gezeigt, daß man durch fein emulgierte Öltröpfchen die Fluorescenz alkoholischer Chlorophyllösungen zum Verschwinden bringen könne. Kohl[2]) wies neben Bestätigung dieser Versuche nach, daß man auch durch feinstes Quarzpulver dies erzielen könne. Ebenso wie im Versuche mit

---

[1]) Bei genauer Durchsicht der Litteratur finde ich, daß Raab unter v. Tappeiners Leitung einen ähnlichen Gedanken erwog, ohne ihm, so weit ich sehe, experimentell näher getreten zu sein. Zeitschr. f. Biol. 39, 540.

[2]) Cit. nach H. Molisch, l. c.

Öl, kehrt die Fluorescenz zurück, sobald die Partikelchen sich zu Boden gesetzt hatten. Die Fluorescenz des Chlorophylls schien demnach durch das trübe Medium unterdrückt zu werden.

Doch wird, wie Molisch[1]) sicher mit Recht ausführt, die Fluorescenz nur verdeckt, da der trübe Körper das einfallende Licht nach allen Seiten zurückstrahlt und das Fluorescenzlicht verdeckt. Auch ergibt sich aus meinen oben mitgeteilten Befunden, daß sogar die Anwesenheit einer so überaus feinen Emulsion, wie sie die roten Blutkörperchen darstellen, die photodynamische Wirkung des Chlorophylls nicht hemmt. Eine Fluorescenz ist in den völlig undurchsichtigen Flüssigkeiten nie zu konstatieren, sie muß jedoch nach dem Ausfall des photodynamischen Versuches vorhanden sein. Es ist demnach möglich, daß die Wirkung eines Stoffes, die offenbar mit der Fluorescenz desselben ursächlich zusammenhängt, auftritt, ohne daß die Fluorescenz äußerlich sichtbar wird. Darauf sei in Hinblick auf die Wirkung des Chlorophylls in der Pflanze besonders hingewiesen.

Wir werden demnach annehmen können, daß die zum Eintritte photodynamischer Wirkung in der Pflanze nötige Fluorescenz auch in der lebenden Pflanze vorhanden ist. Der Umstand nun, daß die Fluorescenz in der Pflanze eine so geringe ist, scheint nun direkt eine der Schutzvorrichtungen der Pflanze gegen ihr eigenes Chlorophyll darzustellen.

Wenn wir uns überlegen, in welch' enormen Verdünnungen das krystallisierte Chlorophyll photodynamisch sowohl auf rote Blutkörperchen wie auf Paramäzien zu wirken vermag, so werden wir direkt an die von Nägeli beschriebenen oligodynamischen Wirkungen der Gifte erinnert. Besonders jene Versuche, in denen bei der minimalen Lichtintensität eines trüben Dezembertages sensibilisierende Wirkung des Chlorophylls noch in einer Verdünnung von 1:3000000 zu konstatieren war, lassen es ganz ausgeschlossen erscheinen, daß ähnlich intensive photodynamische Prozesse in der Pflanze selbst sich abspielen könnten. Es wäre kaum möglich, ein Weiterbestehen der Pflanze gegenüber derartig deletärer Wirkungen anzunehmen.

Da muß man sich nun klar machen, daß das Chlorophyll in der Pflanze sicher nicht in so reaktionsfähiger Weise vorhanden

[1]) l. c.

ist, wie in der alkoholischen Lösung. Außerdem sind ja neben Chlorophyll noch andere Farbstoffe im Chloroplasten tätig, denen ja möglicherweise auch abschwächende Wirkungen zukommen könnten.

Schließlich sei darauf hingewiesen, daß man nach Busk[1]) durch Zusatz von Eiweiß die photodynamische Wirkung fluorescierender Stoffe ganz ungemein herabzusetzen, ja sogar aufzuheben vermag.

Diese Schutzvorrichtungen der Pflanze gegen ihr eigenes Chlorophyll ließen sich nun auch experimentell wahrscheinlich machen. Es zeigte sich, daß intensiv gefärbte, methyl-alkoholische Extrakte grüner Blätter ganz ungemein schwächer wirksam waren, als Chlorophyllösungen von krystallisiertem Chlorophyll, welche letztere dem freien Auge überhaupt nicht mehr grün gefärbt erschienen, wie aus folgendem Versuche hervorgeht.

Versuch.

Intensiv gefärbter methylalkoholischer Extrakt von Spinatblättern wird nach genauer Neutralisation in steigender Menge zu Paramäzienaufschwemmung von je 5 ccm zugesetzt, zugleich wird von einer verdünnten Lösung krystallisierten Chlorophylls mit derselben Kultur unter denselben Belichtungsverhältnissen ein photodynamischer Versuch gemacht. Die mit dem Spinatauszuge versetzten Paramäzienproben sind deutlich grün gefärbt, die Proben mit der ungemein stark verdünnten Chlorophylllösung scheinbar ungefärbt. Die Belichtung am 5./I. 1909 an einem sehr trüben Tage hinter Doppelfenstern nach Süden auf weißer Unterlage. Die Proben in dem Pflanzenextrakte unterschieden sich nicht von ihrer Dunkelkontrolle. In den Proben mit krystallisiertem Chlorophyll im Lichte verendeten die Paramäzien nach einigen Stunden, in den Dunkelkontrollen nicht. Analoge Resultate ergaben Vergleichsversuche mit Einwirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge und Lösungen des reinen Chlorophylls im Lichte auf rote Blutkörperchen. Auch hier waren die viel intensiver grün gefärbten Blätterextrakte ungleich weniger wirksam als die kaum gefärbten Lösungen des krystallisierten Chlorophylls.

---

[1]) G. Busk, Die photobiologischen Sensibilisatoren und ihre Eiweißverbindungen. Diese Zeitschr. 1, 425, 1906.

Wir haben demnach alle Ursache anzunehmen, daß das Chlorophyll, welches seine giftigen Eigenschaften im Chlorophyllkorn nicht zu entfalten vermag, hier nach physiologisch allgemein gültigem Gesetze Reizwirkungen ausübt und daß dieser Reiz, der vom Chlorophyll im Lichte auf den an sich lichtunempfindlichen Chloroplast ausgeübt wird, einen der Hauptmomente für die Anregung der photosynthetischen Assimilation grüner Pflanzen darstellt.

Eine andere Vorbedingung für das Zustandekommen photodynamischer Wirkung ist das Vorhandensein des Sauerstoffes. Ich werde demnächst auf diese Frage, soweit es das Chlorophyll betrifft, zurückkommen, ebenso auf die Sauerstoff übertragende Wirkung dieses Körpers. Hier soll nur hervorgehoben werden, daß Sauerstoff, dessen Anwesenheit nach Tappeiner für den Eintritt photodynamischer Wirkung nötig ist, auch bei der Wirkung des Chlorophylls im Chlorophyllkorn vorhanden ist.

Ad. 2. In welchen Strahlen wirkt Chlorophyll photodynamisch?

Wir wissen, daß die hauptsächlichste Assimilation der grünen Pflanzen, die unter der Mithilfe des Chlorophylls sich vollzieht, durch den leuchtenden Teil des Spektrums hervorgerufen wird. So sicher nun auch es seit langer Zeit bekannt ist, daß der schwächer brechbare Teil des Spektrums der assimilatorisch wichtigere ist, so bestehen noch immer Differenzen über die Lage des Hauptmaximums der roten Spektralhälfte. Nach Reinke ist es zwischen den Fraunhoferschen Linien a u. B ($\lambda = 720$ bis 685 $\mu\mu$), nach Engelmann und Timiriazeff zwischen B u. C ($\lambda = 685$ bis 655 $\mu\mu$), nach Pfeffer zwischen D u. C ($\lambda = 655$ bis 590 $\mu\mu$) gelegen.[1])

A priori war es nun sehr wahrscheinlich, daß auch die photodynamische Wirkung des Chlorophylls durch die roten Strahlen herbeigeführt werde, da wir durch die Untersuchungen v. Tappeiners wissen, daß jene Strahlen, welche absorbiert werden, auch die Ursache dieser Wirkungen sind. Es stellte sich nun in der Tat heraus, daß die roten Strahlen des Spektrums hauptsächlich die Ursache der photodynamischen Wirkung des Chlorophylls sind.

---

[1]) Cit. nach J. Jost, l. c. S. 147.

Die Versuche wurden begonnen mit den chlorophyllhaltigen Extrakten grüner Blätter. Es kam zuerst Strahlenfilter zur Anwendung, und zwar verwendete ich konzentrierte Lösung von Kupfersulfat zur Absorption der Strahlen ungefähr bis zur Wellenlänge von 550 $\mu\mu$, konzentrierte Eosinlösung und Pikrinsäurelösung zur Absorption der Strahlen von Grün und von Blau bis ins äußerste Ultraviolett. Es zeigte sich nun in den ersten, mit chlorophyllhaltigen Pflanzenextrakten an Paramäzien und mit roten Blutkörperchen angestellten Versuchen, daß in jenen Proben, in denen durch die Kupfersulfatlösung die roten und gelben Strahlen abgehalten wurden, die photodynamische Wirkung nur sehr verspätet, wenn überhaupt auftrat.

Es wurden nun mittels folgender Versuchsanordnung die Versuche in spektral zerlegtem Lichte unternommen. Durch einen Spiegel wurde das von einer Bogenlampe durch ein Siedentopfsches Schwefelkohlenstoffprisma erzeugte Spektrum auf einer Glasplatte entworfen. In die einzelnen Spektralbezirke wurden Tropfen einer Paramäzienaufschwemmung gesetzt, welche in 5 ccm 0,1 ccm der 0,05 $^0/_0$ igen methylalkoholischen Lösung von krystallisiertem Chlorophyll enthielt. Es zeigte sich nun übereinstimmend in einer großen Reihe von Versuchen, daß hauptsächlich in jenen Tropfen, die den BC-Strahlen ausgesetzt waren, die Paramäzien nach kurzer Zeit eingingen, während sie in den übrigen Spektralfarben unbeschädigt blieben. Kontrollen mit Eosin ergaben mit derselben Versuchsanordnung, daß die grünen, für die „Chlorophyllparamäzien" unschädlichen Strahlen die „Eosinparamäzien" töteten, so daß in der Tat diese Versuchsanordnung, so weit es bei dieser Art der Lichtzerlegung zu erwarten ist, ausreichende Resultate ergibt.

Diese Versuche, welche ich nur als vorläufig orientierend betrachte, zeigen, daß die Wirkung des krystallisierten Chlorophylls in jenen Strahlenbereichen hauptsächlich erfolgt, in denen das Assimilationsmaximum der Pflanze liegt. Es wird nötig sein, durch Verwendung reiner Gitterspektra die genauere Bestimmung dieser Strahlen vorzunehmen, vor allem wird zu untersuchen sein, ob das vielleicht wegen stärkerer Absorption der blauen Strahlen durch den Schwefelkohlenstoff bisher nicht beobachtete zweite Assimilationsmaximum Engelmanns vielleicht auch mit dieser Methodik nachweisbar ist.

Ad 3. Die dritte Frage, welche zu beantworten war, war die nach der Lokalisation photodynamischer Eigenschaften in der Pflanze und die Möglichkeit nach einem Zusammenhang zwischen Vorhandensein des Chlorophylls und sensibilisierender Eigenschaften.

Da müssen wir uns nun vor allem klar werden: Was sagt uns eigentlich das Vorkommen photodynamischer Wirkung in dem oder jenem Pflanzenteil? Vorerst können wir sagen, der Nachweis photodynamischer Eigenschaft beweist nur, daß eine fluorescierende Substanz vorhanden ist. Mehr können wir von vornherein aus dem Vorhandensein photodynamischer Wirkung nicht schließen. Es war demnach sehr wahrscheinlich, daß auch andere Pflanzenfarbstoffe photodynamische Eigenschaften zeigen, sobald sie fluorescieren, und ich bezweifle gar nicht, daß wir bei darauf gerichteter Untersuchung eine ganze Reihe fluorescierender Pflanzenbestandteile kennen lernen werden.

Durch diese Feststellung wird jedoch der oben versuchte Beweis, daß die photodynamische Wirkung des Chlorophylls in direktem Zusammenhange mit seiner Wirkung im Chlorophyllkorne steht, nicht tangiert.

Denn es muß ganz nachdrücklich betont werden, daß ein Sensibilisator nur dann zu wirken vermag, wenn er an einer Stelle sich befindet, an der er sensibilisierende Eigenschaften entfalten kann. Ich möchte hier zum Vergleich die photographische Platte heranziehen. Bevor das Eosin oder ein beliebiger anderer Sensibilisator nicht auf die photographische Platte gebracht ist, vorher kann er nicht sensibilisierend wirken. Es gehört bei dieser Art der Sensibilisation eben die lichtempfindliche Platte dazu, damit das Eosin in Wirkung treten könne.

Ganz ebenso werden wir uns vorzustellen haben, daß die Sensibilisatoren der Pflanze nur an jenen Stellen im Lichte zu wirken vermögen, die durch ihren Bau darauf abgestimmt sind, Reize, die ihnen durch photodynamisch wirkende Sensibilisatoren zugehen, entsprechend zu verwerten. Daß natürlich, wie Pfeffer schon seit langer Zeit annahm, auch neben Chlorophyll eine große Anzahl anderer und vielleicht sich gegenseitig beeinflussender Sensibilisatoren im Chlorophyllkorn vorhanden sind, scheint mir äußerst wahrscheinlich. Es bedarf aber neben der Fähigkeit

eines Körpers, die strahlende Energie des Lichtes in eine andere Energieform umzusetzen, wie wir dies bei Chlorophyll kennen gelernt haben, auch noch der Anwesenheit dieses Körpers an richtiger Stelle, an der allein er als Energieüberträger zu wirken vermag.

Der Versuch nach der Lokalisation photodynamischer Eigenschaften in den verschiedenen Pflanzenteilen mußte demnach wahrscheinlich folgendes Resultat ergeben. In allen jenen Teilen, die Chlorophyll enthielten, mußten sie selbstverständlich vorhanden sein. In den anderen Pflanzenbestandteilen konnte sie vorkommen, sie konnte jedoch auch sehr oft fehlen. Soweit ich nach meinen bisherigen, noch nicht abgeschlossenen Versuchen berichten kann, trifft dies Verhalten in der Tat vollkommen ein.

Zur Entscheidung dieser Frage untersuchte ich methylalkoholische Auszüge verschiedenster Pflanzenteile in dieser Richtung. Diese Versuche sind noch nicht abgeschlossen genug, um ausführlich darüber berichten zu können. Nach meinen bisherigen Untersuchungen scheint es mir festzustehen, daß die Extrakte der Blüten und, soweit bisher untersucht, der Früchte, keine photodynamischen Eigenschaften entfalten. Nachstehend sei nur einer von den zahlreich angestellten Versuchen mitgeteilt. Die anderen Versuche sollen anderen Orts mitgeteilt werden.

Versuch.

3,3 g Blütenblätter einer dunkelroten Georgine werden mit 15 ccm Methylalkohol extrahiert, davon 0,1, 0,2, 0,3 und 0,5 zu je 5 ccm gewaschener Blutkörperchensuspensionen zugesetzt. Der intensivsten Sonne durch $^3/_4$ Stunde ausgesetzt, bleiben die Proben negativ. 0,5 g der grünen Kelchblätter dieser Blüte werden mit 15 ccm Methylalkohol ausgezogen, 0,3 und 0,5 ccm rufen bei derselben Art der Belichtung intensive Hämolyse hervor. Daß Zusatz von Anthokyan die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Extrakte nicht beeinflußt, war ebenfalls nachzuweisen. Es soll dieser letztere Punkt in Bezug auf das gemeinschaftliche Vorkommen von Anthokyan und Chlorophyll in den Blättern nächstens besprochen werden.

Bisher bin ich noch nicht auf photodynamisch wirkende Blütenextrakte gestoßen, jedoch zweifle ich nicht daran, daß

es auch solche geben wird, und es sind in der Tat ja fluorescierende Anthokyane beschrieben worden. Ich behalte mir vor, in einiger Zeit über diese Fragen wieder zu berichten und besonders auch auf die Frage der photodynamischen Wirkung grüner und etiolierter Pflanzen einzugehen.

Die bisherigen Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Alkoholische Blätterauszüge wirken photodynamisch auf rote Blutkörperchen und auf Paramäzien. Diese Wirkung haben wir in erster Linie dem Chlorophyll zuzuschreiben.

2. Die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge und des reinen Chlorophylls erfolgt in jenen Spektralbezirken, in welchen die hauptsächlichste Assimilation der Pflanze stattfindet. Halten wir diese Eigenschaft zusammen mit dem Umstande, daß auch in der Pflanze eine geringe Fluorescenz vorhanden ist, welche nötig ist zum Eintritt der photodynamischen Wirkung, so ist es sehr wahrscheinlich, daß das Chlorophyll in der Pflanze nach Art der photodynamischen Substanzen wirkend, im Lichte die Assimilation anregt. Ebenso ist der zum Eintritt photodynamischer Wirkung nötige Sauerstoff in der Pflanze vorhanden.

3. Die bisher bekannt gewordenen Tatsachen über die Verbreitung photodynamischer Substanzen in der Pflanze sprechen ebenfalls für den innigen Zusammenhang zwischen Photosynthese und photodynamischer Wirkung.

4. Phylloporphyrin wirkt ebenso photodynamisch wie Hämatoporphyrin. Die nahe Verwandtschaft zwischen Blutfarbstoff und Chlorophyll erweist sich auch in dieser, ihren Derivaten gemeinschaftlichen Eigenschaft der photodynamischen Wirkung.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Permeabilität der Gefäßwände.

Von

Bruno Böhm.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 11. Februar 1909.)

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung.

Die wichtige Frage, durch welche Mittel oder Vorgänge der Flüssigkeits- und Stoffaustausch zwischen Blutcapillaren und Geweben geregelt wird, ist in der letzten Zeit erneut Gegenstand der Untersuchung gewesen. In einer vorausgegangenen Arbeit über die physiologische Permeabilität der Zellen hat Professor Asher in deren dritten Teil die Permeabilität der Gefäßwände untersucht.[1]) Er kam dort zu dem Resultat, erstens, daß mechanisch gesteigerter Capillardruck keine Filtration verursacht, zweitens, daß die Gefäßerweiterer keinen Einfluß auf die Permeabilität der Gefäße haben, drittens, daß die spezifische Tätigkeit des durch die betreffenden Capillaren versorgten Organs eine leicht nachweisbare Veränderung des Blutes bewirke. Diese Veränderung betraf sowohl die Konzentration des Gesamtblutes wie auch die Konzentration des Serums. Da diese Re-

[1]) L. Asher, Diese Zeitschr. 14, 1, 1908.

sultate nicht im Einklange stehen mit den Ergebnissen einiger anderer Autoren, welche früher über den gleichen Gegenstand gearbeitet haben und da, wie Asher in der zitierten Arbeit hervorgehoben hat, wegen der prinzipiellen Bedeutung der aufgeworfenen Fragen die Sammlung eines weiteren Erfahrungsmaterials nötig ist, folgte ich der Aufforderung von Professor Asher, unter seiner Beihilfe erneut die Permeabilität der Gefäße zu untersuchen. Diese Untersuchungen sollten sowohl den Einfluß des Blutdrucks wie auch den Einfluß einiger anderen Variabeln auf den Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Geweben betreffen.

I. Teil.

Einfluß des mechanisch gesteigerten Blutdrucks auf den Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Gewebe.

Die Frage, ob unter physiologischen Bedingungen eine Filtration stattfindet oder nicht, ist von seiten der Physiologen und der an dieser Frage nicht weniger interessierten Pathologen sehr verschiedentlich beantwortet worden. Einerseits wurde überhaupt das Vorkommen einer Filtration unter physiologischen Bedingungen geleugnet, wie dies z. B. Tigerstedt in seinem bekannten Lehrbuch unter Hinweis auf seine eigenen Erfahrungen und auf diejenigen von Leber getan hat. Andererseits ist es nicht minder bekannt, daß zahlreiche Autoren die Filtration als einen wichtigen Faktor im Organismus ansehen, und es bedarf nur des flüchtigen Hinweises auf die Lehre von der Harnbildung und der Lymphbildung sowie auf die Lehre von den Transsudaten und Ödemen, um die große Rolle hervortreten zu lassen, welche die Filtration bei zahlreichen Vorgängen im Tiere spielen soll. Ich betrachte es hier nicht als meine Aufgabe, auf die angedeuteten Probleme und die umfangreiche Literatur dieses Gegenstandes näher einzugehen. Vielmehr darf ich gemäß der gestellten Aufgabe mich auf die neueren Arbeiten von Hess[1]) und W. Erb[2]) einerseits und andererseits auf die oben zitierte Arbeit von Asher bei der Diskussion beschränken, weil in diesen Arbeiten die weitschichtige Frage-

[1]) O. Hess, Arch. f. klin. Med. 79, 128, 1903.
[2]) W. Erb jun., Arch. f. klin. Med. 88, 36, 1906.

stellung auf ein ganz spezielles, auch in den nachfolgenden Experimenten untersuchtes Problem eingeengt wurde. O. Hess hatte unter genauerer Berücksichtigung der zahlreichen früheren Arbeiten den Einfluß der Druckschwankungen im Gefäßsystem und die davon abhängigen physikalischen Vorgänge der Filtration aus Blut in Gewebe und umgekehrt aus Gewebe in Blut mit Hilfe der Ermittelung etwaiger Konzentrationsveränderungen des Blutes untersucht. Er bediente sich wesentlich der Bestimmung der Blutkörperzahl. Erb, der sich nach ihm, gleichfalls wie O. Hess, in H. Meyers Laboratorium mit dem gleichen Problem beschäftigte, bediente sich der Bestimmung des Trockenrückstandes des Gesamtblutes. Letztere Methode, richtig gehandhabt, verdient wohl den Vorzug vor der Bestimmung der Blutkörperchenzahl oder des Hämoglobingehaltes. Hess sowohl wie Erb kommt zu dem Resultat, daß bei Steigerung des Blutdrucks eine Eindickung des Blutes stattfinde, bei Blutdrucksenkung aber eine Verdünnung des Blutes. Sie erklären beide Erscheinungen aus einer Filtration entweder in der einen oder in der andern Richtung, demnach rein mechanisch. Von größerer Bedeutung aber als die von beiden angewandte Methode der Untersuchung des Blutes ist die Art und Weise, wie in beiden Arbeiten die Erhöhung des Blutdruckes bewerkstelligt wurde. Mit ganz verschwindenden Ausnahmen geschah dieselbe durch intravenöse Adrenalininjektion. Ich werde nun auf die Folgen dieses Eingriffes sowie auf gewisse nicht unwesentliche Punkte der beiden Arbeiten, wie auch auf die etwas verschiedenen Resultate erst später eingehen, wenn ich über meine eigenen Versuchsergebnisse bei Adrenalininjektion berichte. Im Gegensatz zu den beiden genannten Autoren hat Asher auf rein mechanischem Wege Drucksteigerung herbeigeführt und hierbei keine Konzentrationsveränderung des Blutes nachweisen können. Er kommt deshalb zu dem Schluß, daß rein mechanisch gesteigerter Druck innerhalb der physiologischen Grenzen keine Filtration im Gefolge habe. Zur Ermittlung der Konzentrationsveränderungen des Blutes bediente sich Asher einerseits der Bestimmung des Trockenrückstandes des Gesamtblutes wie Erb, andererseits benutzte er eine neue Methode, nämlich die Bestimmung des Brechungsindex des Serums, woraus nach Reis' Tabellen der Eiweißgehalt des Serums sich berechnen läßt.

Letztere Methode ergab demnach die etwaigen Konzentrationsveränderungen des Blutserums. Die Drucksteigerung geschah erstens durch temporäre Abklemmung der Aorta abdominalis, dicht unter dem Zwerchfell. Hierbei wurde entweder arterielles oder venöses Blut aus dem Kopfgebiet untersucht. Zweitens wurde rein lokal der Blutdruck in der Glandula submaxillaris durch Reizung der Chorda tympani erhöht, nachdem durch vorausgegangene Atropinisierung die spezifische Tätigkeit der Speicheldrüse ausgeschaltet worden war. In einem Fall wurde durch elektrische Reizung der Medulla oblongata der allgemeine Blutdruck erhöht. Im Gegensatz zu dem negativen Ergebnis bei rein mechanischer Drucksteigerung erhielt Asher genau wie Hess und Erb nach Adrenalininjektion eine erhebliche Zunahme des Trockenrückstandes im Gesamtblut, also Eindickung desselben. Ferner trat sehr prompt in dem aus einer in starker Tätigkeit befindenden Speicheldrüse ausfließenden venösen Blute sowohl Konzentrationszunahme des Gesamtblutes wie des Serums ein. Es spricht sehr viel dafür, wie Asher in der zitierten Arbeit angeführt hat, daß die Konzentrationsveränderungen des Blutes nach Adrenalininjektion nicht im Zusammenhange stehen mit der dabei beobachteten Steigerung des arteriellen Blutdrucks.

Um von einer neuen Seite her den etwaigen Einfluß der Erhöhung des Blutdrucks auf den Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Geweben zu prüfen, habe ich durch Reizung des Nervus splanchnicus den Blutdruck erhöht. Da der allgemeine Blutdruck durch diese Reizung gesteigert wird, konnte ich aus einem beliebigen Körperteil arterielles oder venöses Blut zur Prüfung entnehmen. Wichtiger für mich war aber der Umstand, daß ich hierbei insbesondere das Verhalten der Capillaren der Eingeweide auf Drucksteigerung hin untersuchen konnte. Denn es ließ sich leicht die Vermutung aufstellen, daß für die in der Asherschen Arbeit untersuchten Gefäßgebiete eine Abhängigkeit des Flüssigkeitsaustausches infolge Blutdruckschwankungen nicht nachweisbar gewesen wäre, entweder aus methodischen Gründen oder wegen der besondern Permeabilität dieser Gefäßgebiete. Viel Wahrscheinlichkeit hat diese Vermutung allerdings nicht. Nun wird bei Splanchnicusreizung in erster Linie der Capillardruck in dem Darmgebiet erhöht, so daß die Möglichkeit ge-

boten wird, wenn venöses Blut aus einem Venenstamm des Pfortadergebietes aufgefangen wird, ein sehr wichtiges und nach manchen Autoren mit besondern Permeabilitätseigenschaften ausgestattetes Gefäßgebiet auf sein Verhalten gegen Druckschwankungen zu untersuchen. Es mag noch darauf hingewiesen werden, daß auf Grund der hierfür maßgebenden Arbeit von Bayliss und Starling[1]) tatsächlich in den Capillaren der Eingeweide der Blutdruck gesteigert ist. Diese Tatsache ist von Bedeutung, und es ist das Verdienst von Bayliss und Starling, für eine große Reihe von in der Experimentalphysiologie wichtigen Fällen den richtigen Zusammenhang zwischen arteriellem und Capillardruck klargelegt zu haben.

Methodik.

Zu meinen Versuchen dieses ersten Abschnittes dienten Katzen. Dieselben wurden während der ganzen Dauer des Versuchs mit Äther narkotisiert. Der arterielle Blutdruck wurde von einem mit der Carotis verbundenen Quecksilbermanometer auf einen Ludwigschen Kymographion registriert. Vor Eröffnung der Bauchhöhle wurden Vorkehrungen getroffen, um während der Präparation in der Bauchhöhle die Eingeweide möglichst warm zu halten. Zu diesem Zweck habe ich nach Anlegung des Hautschnittes in der Linea alba an den Rand des einen Hautschnittes einen größeren, vorher in warmer Kochsalzlösung liegenden Wolllappen angenäht. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurden alle Teile, an denen ich nicht gerade manipulierte, vollständig in den warmen Wolllappen eingehüllt, und über den Lappen kamen nach Bedarf weitere feuchte und trockene Wollagen. In gelungenen Versuchen gelang es, auf diese Weise während der ganzen Versuchsdauer die Eingeweide vor Abkühlung zu bewahren. Ich schritt zunächst zur Präparation des linksseitigen Splanchnicus. Es ist gerade bei der Katze nicht schwer, den Splanchnicus major und minor zwischen dem Austritt aus dem Zwerchfell und dem Ganglion mesentericum superius oberhalb der Nebenniere freizulegen. Die beiden Nerven kommen auf eine Ludwigsche Hartgummi-

[1]) W. Bayliss und H. Starling, Journ. of Physiol. 16, 159, 1894.

elektrode für tiefliegende Nerven. Die Elektrode wurde durch eine Naht unverrückbar befestigt. Darauf präparierte ich die Vena lienalis. Die Milz wurde hervorgeholt, und es wurden die zur Milz führenden Arterien abgebunden, um die lästige Schwellung der Milz aufzuheben. Die Vena lienalis wurde zentral abgeklemmt, dann wurden peripherwärts alle Zuflüsse in die Vena lienalis, welche diesseits der Abklemmungsstelle einmündeten, abgebunden und eine Glaskanüle eingeführt. Auf diese Weise habe ich gesichert, daß das ausfließende Venenblut nur aus Gebieten kam, deren Gefäße unter dem direkten Einfluß des gereizten Nervus splanchnicus standen. Wie bekannt, ist die Gerinnbarkeit des Pfortaderblutes eine ziemlich große und besonders bei der Katze. Um die Gerinnung aufzuheben, habe ich Hirudin intravenös injiziert. Ich habe so dosiert, daß 0,03 g auf das Kilo Katze kam. Injiziert man diese Menge langsam, so ist keine Störung am narkotisierten Tiere bemerkbar. Die Ungerinnbarkeit des Bluts hält meist genügend lange Zeit an, um das nötige Blut bei verschiedenen Versuchseingriffen zu gewinnen. Aber es muß stets peinlich auf das Auftreten der ersten Gerinnsel geachtet werden, da bei der geringsten Gerinnselbildung das Auffangen des Blutes aus der Vene aufgegeben werden muß. Bei einzelnen Tieren zeigt sich diese störende Gerinnselbildung schon nach dem Verlauf einer Stunde. Im arteriellen Blut wird die Gerinnung durch Hirudin viel länger hingehalten. Ein zweiter Übelstand bei der Anwendung von Hirudin lag für meine Versuche darin, daß für die kleine Quantität Hirudin immerhin 20 bis 30 ccm physiologischer Kochsalzlösung zur vollständigen Auflösung benötigt werden. Verhältnismäßig für die Kleinheit der Katze ist die Menge der zu injizierenden Flüssigkeit nicht ganz gleichgültig für die Konzentration des Blutes. Es wird eine gewisse Verdünnung des Bluts herbeigeführt. Die absoluten Werte der Konzentration des Blutes sind daher in meinen Versuchen niedriger als in der Norm, aber dieser Fehler kann vernachlässigt werden, da es sich in meinen Versuchen um Vergleichung zweier unter verschiedenen Versuchsbedingungen rasch hintereinander gewonnenen Blutproben handelt. Auch einen andern Übelstand der Hirudininjektion glaube ich ähnlich wie Asher beobachtet zu haben, nämlich, daß die bei langdauernden Versuchen in Narkose stets

hervortretende Tendenz zur allmählichen Abnahme des Trockengehaltes im Blute durch die Hirudininjektion noch vergrößert wird.

Die Versuche liefen so, daß abwechselnd Blut aus der Vena lienalis bei dem jeweilig herrschenden Blutdruck und bei durch Splanchnicusreizung erhöhten Blutdruck aufgefangen wurde. Gereizt wurde mit einem Induktionsapparat nach Kronecker, die Stärke des Stromes wurde den jeweiligen Bedürfnissen angepaßt. Zur Bestimmung des Trockengehalts im Blut wurde das Blut in mittelgroßen, vorher genau gewogenen Trockengläschen mit eingeschliffenem Glasstöpsel aufgefangen. Vor dem Auffangen jeder einzelnen Portion wurden erst ein paar Tropfen Blut verloren gegeben, damit nicht etwa das von der voraufgehenden Periode in der Vene zurückgebliebene Blut der neuen Probe sich beimengte und dadurch ein falsches Resultat entstände. Wenn ich Blut behufs refraktometrischer Bestimmung des Eiweißgehaltes des Serums gewinnen wollte, wurde das Blut in kleinen 3 ccm enthaltende Röhrchen aufgefangen. Durch Zentrifugieren wurde dann klares Serum gewonnen. Die Menge von Blut bei der Entnahme war auf das unumgänglich notwendige einzuschränken, damit nicht der Blutverlust einen merklichen Einfluß auf die Konzentration des Blutes gewinne. Bei der Kleinheit der Katze wird sich dieser Einfluß nicht in allen Fällen eliminieren lassen, beim Hunde ist das nach der Angabe von Hess der Fall. Aber die Katze hat dem Hunde gegenüber den großen Vorteil, daß man durch Hirudin die Gerinnbarkeit aufheben kann, was beim Hunde der hohen Kosten wegen nicht möglich ist.

Es muß hervorgehoben werden, daß die Vergleichung beruhte auf einer Vergleichung des venösen Blutes bei niederem und bei hohem Blutdruck. Würde in den Capillaren der Eingeweide durch mechanische Drucksteigerung innerhalb der physiologischen Grenzen ein Flüssigkeitsaustritt stattfinden, so würde das während der Drucksteigerung ausfließende venöse Blut einen höheren Trockengehalt besitzen als das unter niedrigem ausfließende. Das Auffangen des Blutes fand statt, nachdem die durch Splanchnicusreizung erzielte Drucksteigerung 1 Minute lang angedauert hatte. Die Eiweißbestimmung im Serum hat folgenden Wert: Würde eine vermehrte Filtration bei erhöhtem Drucke stattfinden, so würde eine Zunahme des

prozentischen Eiweißgehaltes im Serum sich nachweisen lassen. Denn selbst unter der durchaus berechtigten Annahme, daß das Filtrat aus dem Blutplasma eiweißhaltig sei, wird nach allem, was wir wissen, unter physiologischen Bedingungen der Flüssigkeitsaustritt über den Eiweißaustritt so überwiegen, daß die prozentische Zunahme an Eiweiß der so feinen refraktometrischen Methode nicht entgehen könnte. In einigen Fällen habe ich nicht das aus der Vena lienalis ausfließende Blut, sondern arterielles Blut bei niedrigem und hohem Blutdruck untersucht. Die Drucksteigerung bei Splanchnicusreizung kommt ja im ganzen Organismus zur Geltung, und daher mußte sich auch der Einfluß der etwaigen Filtration überall bemerkbar machen. Tatsächlich behaupten ja auch diejenigen Autoren, welche unter physiologischen Bedingungen einen Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen infolge Drucksteigerung annehmen, daß die Konzentrationszunahme des Blutes in einer beliebigen Arterie nachweisbar ist. So hat Erb in seiner mehrfach zitierten Arbeit nach Adrenalininjektion Konzentrationszunahmen im arteriellen Blute nachgewiesen. Über die refraktometrische Eiweißbestimmung, welche von Asher zur Untersuchung der Permeabilitätsverhältnisse eingeführt wurde, habe ich nur zu bemerken, daß ich mich an die Vorschriften gehalten habe, welche er in seiner Arbeit gegeben hat. Die Bestimmung des Trockengehalts im Gesamtblut ist von einigen Autoren beanstandet worden mit der Behauptung, daß die große Hygroskopicität des Trockenrückstandes die Erzielung eines konstanten Endgewichtes verhindere. Diese Behauptung steht nicht im Einklange mit den bestimmten Angaben von Erb. Auf Grund meiner Beobachtung schließe ich mich durchaus Erb an, denn ich habe die Wägegläschen im Trockenschranke so lange gehalten, bis dieselben in der Wage mit eingeschliffenen Glasstöpfchen gewogen ein konstantes Endgewicht erreicht hatten. Als Endpunkt habe ich betrachtet, wenn die Differenz zweier Wägungen, welche zwischen mehrstündiger wiederholter Trocknung lagen, unter 1 mg gegangen war.

Zunächst teile ich einige Vorversuche mit, in denen die Splanchnicusreizung nur einen geringen Erfolg erzielte und wo infolge der noch nicht hinreichend ausgebildeten Versuchstechnik der Blutdruck schon im Beginn des Versuchs ein sehr tiefer war.

Versuch 1.

Katze, 1 kg. Äthernarkose. Kanüle in Milzvene. Splanchnicus auf Elektrode. Linke Carotis mit Manometer verbunden.

Nr.	Blutdruck	Serum-Eiweißgehalt refraktometrisch bestimmt %	Bemerkungen
I	26	6,098	—
II	34	6,098	mit Reizung
III	26	5,989	—

Aus diesem Versuch geht hervor, daß der prozentische Eiweißgehalt des Serums während der ganzen Versuchsdauer konstant bleibt. Die Drucksteigerung in Periode II hat nicht im mindesten eine Veränderung herbeigeführt. Die Konstanz des prozentischen Eiweißgehaltes könnte an und für sich auf zwei verschiedenen Gründen beruhen. Erstens könnte tatsächlich während der Drucksteigerung eine Filtration stattgefunden haben; wenn dabei das Filtrat in seiner Zusammensetzung von derjenigen des Blutplasmas nicht abwiche, könnte auch keine Änderung des prozentischen Eiweißgehaltes eintreten, zweitens könnte auch überhaupt keine Filtration stattgefunden haben. Für die zweite Alternative sprechen außer den oben in meiner Einleitung angegebenen Gründen meine eigenen nachfolgenden Versuche.

Versuch 2.

Katze. Gewicht $1^1/_2$ kg. Injektion von 0,04 g Hirudin. Äthernarkose. Linke Carotis mit Manometer verbunden. Kanüle in Milzvene. Splanchnicus auf Elektrode.

Nr.	Blutdruck	Serum-Eiweißgehalt refraktometrisch bestimmt %	Trockengehalt des Gesamtblutes %	Bemerkungen
I	30	8,366	9,133	—
II	40	8,323	9,066	mit Reizung
III	40	8,28	9,033	„ „
IV	30	8,193	9,22	—

Auch Versuch 2 hat das gleiche Ergebnis wie der voraufgehende. Um die Richtigkeit des refraktometrisch gefundenen

Eiweißwertes zu kontrollieren, habe ich daneben den Trockengehalt des Blutserums mit der Wage bestimmt. Diese Kontrolle, welche auch Asher in seiner Arbeit mehrfach ausgeführt hat, ist deshalb recht erwünscht, weil ja die refraktometrische Bestimmung an einem einzigen Tropfen gemacht wird, ein Vorzug und ein Nachteil zugleich der Methode. Beide Methoden ergeben, daß im Verlauf des Versuches, sowohl ohne wie mit Splanchnicusreizung, der prozentische Gehalt an Eiweiß und Trockensubstanz im Serum sich gleichbleibt. Allerdings beträgt die Drucksteigerung infolge der Splanchnicusreizung nur 10 mm Quecksilber.

Versuch 3.

Katze, etwas über 1 kg. Äthernarkose. Linke Carotis mit Manometer verbunden. Kanüle in Vena jugularis der anderen Seite zwecks Einführung von 0,03 g Hirudin. Splanchnicus auf Elektrode. Kanüle in Milzvene.

Nr.	Zeit	Blutdruck	Trockensubstanz %	Bemerkungen
I	3h 52′0″ bis 3h 52′45″	68	19,132	—
II	3h 55′10″ „ 3h 55′55″	54	18,772	—
III	4h 0′35″ „ 4h 1′20″	48	18,737	—
IV	4h 3′30″ „ 4h 4′45″	62	18,064	gereizt, Fall des Blutdrucks von 62 auf 50
V	4h 11′30″ „ 4h 12′38″	44	17,606	gereizt

Im Versuch 3 habe ich nur den Trockengehalt des Gesamtblutes bestimmt, denn Änderungen im Trockengehalt des Gesamtblutes sind die ausschlaggebenderen bisher gewesen. Heß hatte nach Adrenalininjektion bei hohem arteriellem Druck wohl Eindickung des Gesamtblutes nachweisen können, aber keine solche im Serum. Im Gegensatz hierzu hatte Asher zeigen können, daß bei Anwendung sicherer Methoden als Hess sie benutzte, die Kontentrationszunahme des Serums unter solchen Bedingungen, wo die gleiche Zunahme im Gesamtblut eintritt, nachweisbar ist. Trotzdem wird man in jedem neuen Fall vorläufig das Hauptgewicht auf die Verhältnisse des Gesamtblutes legen. Probe I, II und III sind ohne Reizung gewonnen. Der Druck ist wohl infolge der tiefen

Narkose allmählich von 68 bis 48 gefallen. Der Gehalt an Trockensubstanz hat sich auch vermindert von 19,132 bis auf 18,737 %. Die durch Splanchnicusreizung bewirkte Druckerhöhung von 48 mg Quecksilber bis auf 62 mg Quecksilber vermag dieser Tendenz zur allmählichen Verminderung des prozentischen Trockengehaltes im Blut nicht Einhalt zu tun, wie Probe IV zeigt. Daraus folgt, daß in diesem Fall mecha nische Drucksteigerung keine Filtration im Gefolge hatte. Probe V ist wiederum bei dem niedrigen Blutdruck von 44 mg Quecksilber gewonnen und zeigt eine Abnahme des Trockengehaltes um 0,4 %. Da vorher bei einer Drucksteigerung von 48 bis 62 mm Quecksilber eine Abnahme des Trockengehaltes um 0,7 % konstatiert wurde, kann man nicht ohne weiteres die Konzentrationsabnahme des Blutes auf Rückfiltration von Gewebsflüssigkeit infolge Drucksenkung zurückführen. Zum Verständnis der Angaben in den Protokollen erwähne ich, daß die Bemerkung bei einzelnen Proben, daß der Druck von einem höheren zu einem niederen Werte fallend sei, sich auf den kurz dauernden Fall bezieht, der öfters während einer sogar sehr geringfügigen Blutabnahme eintritt.

Versuch 4.

Katze, etwas über 1 kg. Äthernarkose. Hirudininjektion 0,03 mg. Präparation wie sonst.

Nr.	Zeit	Blutdruck	Trockensubstanz %	Bemerkungen
I	3h 33′20″ bis 3h 33′35″	36	14,338	—
II	3h 34′45″ „ 3h 35′0″	45	14,208	mit Reizung
III	3h 37′0″ „ 3h 37′18″	30	13,780	—

Versuch 4 bedarf nach dem Gesagten keiner weiteren Erläuterung. Probe II während einer Drucksteigerung infolge Splanchnicusreizung gewonnen, zeigt keine Andeutung einer Zunahme der Trockensubstanz infolge von Filtration. Ich gehe zum Bericht einer Reihe von Versuchen über, in denen die Höhe des Blutdrucks auch außerhalb der Reizperioden größer war als in den voraufgegangenen Versuchen. Zunächst Versuch 5.

Zweimal ist in diesem Versuch der Blutdruck infolge von Splanchnicusreizung um je 15 mm Quecksilber gegenüber der

Versuch 5.

Katze, $1^1/_2$ kg. Äthernarkose. Präparation wie sonst. 0,04 g Hirudin aufgelöst in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung, injiziert in zwei Portionen.

I. Portion 3h 27′ 10″ bis 3h 27′ 50″.
II. „ 3h 30′ 30″ „ 3h 31′ 0″.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	3h 34′ 15″ bis 3h 34′ 30″	55	15,929	—
II	3h 35′ 30″ „ 3h 35′ 50″	70	16,097	mit Reizung
III	3h 37′ 0″ „ 3h 37′ 14″	40	15,825	—
IV	3h 38′ 20″ „ 3h 38′ 40″	65	15,583	mit Reizung
V	3h 40′ 45″ „ 3h 41′ 5″	40	15,675	—
VI	3h 42′ 5″ „ 3h 42′ 30″	50	15,382	mit Reizung

Kontrollperiode gesteigert, ohne daß eine Erhöhung des prozentischen Trockengehaltes eingetreten ist. In einem Falle bleibt derselbe konstant, im andern Falle sinkt er um annähernd 0,3 %. Will man sich sehr vorsichtig ausdrücken, so könnte man sagen, eine so geringe Blutdrucksteigerung wie die um 15 mm Quecksilber verursacht keine merklichen Zeichen von Filtration. Würde wirklich Filtration die ihr von manchen zugeschriebene Rolle unter physiologischen Bedingungen spielen, so müßte selbst bei einer Drucksteigerung von nur 15 mm Quecksilber der Sachverhalt ein anderer sein als in meinen Versuchen. Denn bei den natürlichen Erregungen, im Gegensatz zu den experimentell ausgelösten dürften recht häufig die Druckschwankungen nicht auf viel höhere Beträge sich belaufen, und andererseits ist ein Druckzuwachs von 15 mm Quecksilber ein Wert, der bei einfacher Filtration wohl befähigt wäre, Änderungen in der Filtrationsgröße zu erzielen. Wichtiger als diese Argumentationen erscheint mir aber, daß auch bei größeren[1]) Druckschwankungen ein Einfluß der Filtration sich ausschließen läßt. Ein Beleg hierfür ist der nachfolgende Versuch 6.

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: In einer neueren, wichtigen Arbeit von J. Schmid aus dem Breslauer physiologischen Institut (J. Schmid, Pflügers Arch. 126, 167, 1909) finden sich bei beiderseitiger Splanchnicusreizung an der Katze dieselben arteriellen Drucksteigerungen, wie ich sie registrierte.

Versuch 6.

Katze, Gewicht $1^1/_2$ kg. Äthernarkose. Präparation wie sonst. Hirudininjektion wieder in zwei Portionen.

I. Portion $3^h 25'$ bis $3^h 26' 30''$.

II. „ $3^h 33'$ „ $3^h 35'$.

Im ganzen 0,04 g Hirudin, gelöst in 25 ccm Kochsalzlösung.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Serum-Eiweiß-gehalt refraktometrisch %	Bemerkungen
I	$3^h 38' 45''$ bis $3^h 39' 30''$	100	17,616	—	—
II	$3^h 42' 40''$ „ $3^h 43' 40''$	100	17,549	—	—
III	$3^h 45' 0''$ „ $3^h 45' 45''$	80	17,841	—	—
IV	$3^h 47' 0''$ „ $3^h 47' 50''$	122	17,127	—	mit Reizung
V	$3^h 51' 10''$ „ $3^h 52' 0''$	80	17,375	—	—
VI	$4^h 8' 30''$ „ $4^h 8' 35''$	80	16,453	—	aus Arterie mit Reizung
VII	$4^h 10' 0''$ „ $4^h 10' 8''$	47	16,470	—	—
VIII	$4^h 12' 30''$ „ $4^h 12' 38''$	70	—	3,9619	mit Reizung
IX	$4^h 14' 40''$ „ $4^h 14' 50''$	40	—	4,2904	—
X	$4^h 15' 0''$ „ $4^h 15' 10''$	66	—	4,1809	mit Reizung

In diesem Versuch bewegte sich der Blutdruck im Anfang zwischen 80 und 100 mm Quecksilber. Um eine Reihe von Werten des Trockengehaltes des Blutes ohne weiteren Eingriff außer den vorangegangenen operativen Maßnahmen und der Andauer der Narkose zu haben, wurden 3 Proben venösen Bluts aus der Vena lienalis aufgefangen. Der Trockengehalt bewegt sich zwischen 17,549 % und 17,841 %. Dabei ist gerade der höhere Wert des Trockengehaltes bei dem niedrigsten Druckwert, nämlich 80 mm vorhanden. Die darauf folgende Splanchnicusreizung Probe IV erhöht den Druck um 42 mm (von 80 auf 122), dabei sinkt aber der Wert des Trockengehaltes von 17,841 % auf 17,127 %. 4 bis 5 Minuten später bei Entnahme der Blutprobe V beträgt der Blutdruck ohne Splanchnicusreizung wieder 80 mm und der Trockengehalt des Blutes 17,395 %. Der Unterschied zwischen 17,129 % und 17,375 % hält sich innerhalb der Differenzen, die vorher bei drei nacheinander aufgefangenen Normalproben beobachtet wurden. Das hier erhaltene Resultat demonstriert in sehr anschaulicher Weise, daß eine erhebliche Drucksteigerung keine Filtration oder vorsichtig

ausgedrückt, nicht notwendigerweise Filtration hervorruft. Man kann aber noch weiter gehen und gerade aus dem vorliegenden Resultat den weiteren Schluß ziehen, daß nicht allein keine Eindickung des Blutes infolge Filtration, wie das Hess und Erb (außer früheren Autoren) wollen, eingetreten ist, sondern der gesteigerte Blutdruck nicht einmal imstande war, den Flüssigkeitseintritt aus den Geweben in die Blutbahn hintanzuhalten. Es ist klar, daß die Verminderung des Trockengehaltes des Bluts, welche nach Probe III eintritt und im weiteren Verlaufe des Versuches fortschreitet, nur von dem Eintritt von Gewebsflüssigkeit in die Gefäße herrühren kann. (Das Umgekehrte, Austritt einer so konzentrierten Lösung aus dem Blut, daß deshalb das Blut verdünnter wird, ist bei meinen Versuchen ausgeschlossen und bedarf keiner Diskussion.) Der Flüssigkeitsaustritt aus der Gewebsflüssigkeit in die Blutbahn in diesem wie in meinen andern Versuchen kann zum Teil herrühren von der andauernden Narkose und andern Folgen des operativen Vorgehens. Zum Teil beruht er aber auch auf dem sehr fein und prompt spielenden Regulationsmechanismus, der bei Blutentzügen in Aktion tritt. In dem vorliegenden Versuch hatte ich schließlich am Ende 22,34 ccm Blut im ganzen entzogen. Wenn nun die gleiche Menge durch die verdünntere Gewebsflüssigkeit ersetzt wird, bedeutet das schon für die Blutmenge einer mittelgroßen Katze keine geringe Verdünnung. Ich komme später im Zusammenhang auf die Beziehung des genannten Regulationsmechanismus zu der hier behandelten Frage des Einflusses von Blutdruckschwankungen auf den Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Gewebe zurück. Hier möchte ich nur bemerken, daß ich den Eindruck gewonnen habe (Prof. Asher teilt mir mit, daß er bei seinen Versuchen an Katzen den gleichen Eindruck gewonnen hat), daß gerade bei der Katze besonders leicht und schon bei sehr geringfügigen Blutentzügen der Flüssigkeitseintritt aus dem Gewebe in die Blutbahn stattfindet. Vielleicht beruht die große Widerstandsfähigkeit der Katze gegen Blutverlust mit auf dieser Eigentümlichkeit.

Einige Zeit nach der Entnahme von Probe V schienen sich in der Venenkanüle kleine Gerinnsel zu bilden. Ich habe daher im weiteren Verlauf des Versuchs Blut aus der Carotis genommen. Zwei Proben zur Bestimmung des Trockengehaltes und

drei Proben zur Bestimmung des Eiweißgehaltes des Serums mit Hilfe des Refraktometers. Es zeigt sich, daß ein Druckunterschied von 80 mm und 47 mm Quecksilber, durch Splanchnicusreizung erzielt, nicht den geringsten Unterschied im Trockengehalte des Blutes ausmacht. Denn der Trockengehalt beträgt im ersten Fall 16,453 %, im zweiten 16,470 %. In den drei Proben für die refraktometrische Eiweißbestimmung betragen die arteriellen Druckwerte 70 mm, 40 mm und 66 mm Quecksilber. Bei hohem und niederem Druck war praktisch der Eiweißgehalt des Serums der gleiche. Es war also nicht durch Austritt einer eiweißärmeren Flüssigkeit als das Serum selbst eine prozentische Eiweißzunahme im zurückbleibenden Serum eingetreten. Asher hat in solchen Fällen, wo wirklich ein Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen stattfindet, die Eiweißzunahme im Serum nachweisen können. Demnach negieren auch diese Teile des Versuchs 6 einen Einfluß der Filtration. In dem nachfolgenden Versuch 7 habe ich von vornherein arterielles Blut aus einer Carotis aufgefangen.

Versuch 7.

Katze, $1^1/_2$ kg. Äthernarkose. Präparation wie sonst, doch ohne Kanüle in der Milzvene, da nur arterielles Blut gewonnen wird.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Eiweißgehalt refraktometrisch bestimmt %	Bemerkungen
I	3h 16′ 30″ bis 3h 16′ 34″	116	17,227	—	—
II	3h 17′ 30″ „ 3h 17′ 35″	154	17,280	—	mit Reizung
III	3h 19′ 35″ „ 3h 19′ 40″	114	16,968	—	—
IV	3h 20′ 55″ „ 3h 20′ 59″	135	16,868	—	mit Reizung
V	3h 22′ 40″ „ 3h 22′ 43″	135	16,773	—	mit Reizung
VI	3h 24′ 35″ „ 3h 24′ 37″	110	17,037	—	—
VII	3h 27′ 0″ „ 3h 27′ 2″	124	16,679	—	mit Reizung
VIII	3h 37′ 40″ „ 3h 37′ 42″	104	16,602	—	mit Reizung
IX	3h 43′ 30″ „ 3h 43′ 32″	96	verunglückt	—	—
X	3h 46′ 5″ „ 3h 46′ 7″	102	16,573	—	mit Reizung
XI	3h 51′ 59″ „ 3h 52′ 01″	111	—	6,7059	mit Reizung
XII	3h 53′ 40″ „ 3h 53′ 42″	98	—	6,771	—
XIII	3h 55′ 35″ „ 3h 55′ 37″	104	—	6,6191	mit Reizung

Gesamter Blutentzug 30,1098 g.

Das Auffangen von arteriellem Blut hat den Vorzug, daß es nicht der eingreifenden Operation bedarf wie der Einbindung einer Kanüle in die Vena lienalis, und daß der Verschluß der Bauchhöhe nach Einlegung des Nervus splanchnicus in eine Elektrode vollständiger gemacht werden kann. Alles dies hat im Gefolge, wie auch Versuch 7 zeigt, daß der Blutdruck im allgemeinen eine größere Höhe behält als sonst. Die Berechtigung, arterielles Blut zum Vergleich zu benutzen, ohne daß dabei die Grundlagen des Versuchszwecks abgeändert werden, läßt sich leicht erweisen. Zwar hatte Hess bei Drucksteigerung, beziehentlich nach Adrenalininjektion, nur in dem venösen Blut, nicht in dem arteriellen Konzentrationszunahme beziehentlich Flüssigkeitsaustritt nachgewiesen. Bald darauf zeigte aber Erb, daß bei richtiger Versuchsanordnung gleichzeitig im arteriellen und venösen Blut der Flüssigkeitsaustritt nachweisbar ist. Erb hat auch in seiner oben zitierten Arbeit die Annahme beseitigt, welche Hess zur Erklärung seiner abweichenden Befunde aufgestellt hatte. Bei Splanchnicusreizung ist die direkte Wirkung die auf die Gefäße der Eingeweide, aber die arterielle Drucksteigerung ist zufolge Überragens des Splanchnicusgebiets eine allgemeine. Es wird daher im ganzen Körper der Capillardruck gesteigert werden, um so mehr als nicht wie bei einigen arteriellen Drucksteigerungen auf der venösen Seite Momente auftreten, um eine Erhöhung des Capillardrucks zu verhindern. Das einzige, was bei Auffangen von Carotisblut nach Splanchnicusreizung sich nicht untersuchen läßt, ist die isolierte Untersuchung der Permeabilität der Eingeweidecapillaren. Da aber die direkte Analyse des Bluts aus der Vena lienalis negative Resultate gab, ist die Berücksichtigung dieses Punktes vorläufig erledigt.

Die Zahlen des Protokolls von Versuch 6 zeigen nun, wie alle bisherigen, daß selbst bei merklichen Steigerungen des Blutdruckes z. B. von 116 auf 154 mm Quecksilber keine Zunahme des Trockengehaltes im Blute eintritt. Diesem negativen Befund entspricht auch die weitere Tatsache, daß Drucksteigerung keine Zunahme des prozentischen Eiweißgehalts im Serum hervorruft.

Das eindeutige Resultat sämtlicher in diesem Abschnitt mitgeteilter Versuche ist also, daß eine durch Splanchnicusreizung verursachte Drucksteigerung keinen Flüssigkeitsaustritt

aus den Blutgefäßen bewirkt. Daraus schließe ich, daß auch für diesen Fall ganz analog, wie das Asher für Drucksteigerung infolge hoher Aortenkompression und lokal infolge von Reizung eines Gefäßerweiterers gefunden hat, innerhalb der physiologischen Grenzen die Filtration keine Rolle spielt.

II. Teil

Der Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen infolge von Adrenalininjektion und der Flüssigkeitseintritt in die Gefäße infolge Blutentzuges.

Mein erneutes Ergebnis, daß mechanische Drucksteigerung keine Filtration hervorruft, läßt es erwünscht erscheinen, nochmals auf die Folgen der Adrenalininjektion zurückzukommen. Es wird aus meinen nachfolgenden Darlegungen hervorgehen, weshalb es notwendig ist, diese Frage im Zusammenhang mit der Frage nach dem Flüssigkeitseintritt in die Gefäße infolge von Blutentzug zu erörtern. Hess sowohl wie Erb hatten nach Injektion von Adrenalin eine Zunahme der Trockensubstanz des Blutes beobachtet. Da mit der Adrenalininjektion eine gewaltige Drucksteigerung einhergeht, schlossen sie daraus, daß eine Filtration stattgefunden habe. Asher hat bei einer Nachprüfung des Erfolges der Adrenalininjektion die tatsächlichen Befunde von Hess und Erb vollständig bestätigt. Aber er hat darauf hingewiesen, daß der Schluß auf Filtration nicht einwandfrei gezogen werden kann. Erstens ist es nicht sicher, ob tatsächlich trotz hohen Drucks in den größeren Arterien der Capillardruck wesentlich gesteigert sei. Auf den Capillardruck kommt es, wie Bayliss und Starling gezeigt haben, aber an. Die Kontraktion der kleinsten Arterien infolge Adrenalinwirkung könnte so stark sein, daß der Capillardruck gar nicht steigt. Tatsächlich beobachtete Asher bei kräftiger Adrenalinwirkung verminderten Ausfluß aus der Vene. Zweitens ist die Adrenalininjektion begleitet von mannigfachen Wirkungen auf die Gewebe. Asher wies bei seinen Versuchen auf die profuse Sekretion einer ganzen Reihe von Drüsen hin und stellte daher das Ergebnis der Adrenalinwirkung in Parallele mit dem von ihm nachgewiesenen starken Flüssigkeitsaustritt aus den Capillaren infolge spezifischer Tätigkeit der

Speicheldrüsen. Wirkung auf die Drüsen ist aber nicht der einzige Erfolg des Adrenalins, denn wie Langley und Elliott[1]) bewiesen haben, hat Adrenalin überall da eine Reizwirkung, wo ein Gewebe vom Sympathicus innerviert wird, und zwar identisch mit der Sympathicuswirkung. Bei so komplexen Verhältnissen darf man nicht ohne strengen Beweis den Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen nach Adrenalininjektion einfach auf Filtration zurückführen. Das um so weniger, als jetzt eine Reihe von Fällen entgegenstehen, wo rein mechanisch bewirkte Drucksteigerung nicht zur Filtration geführt hat.

Sieht man sich die Versuche mit Adrenalininjektion näher an, insbesondere diejenigen von Erb, als die letzten und genauesten, so stößt man auf einige eigenartige Verhältnisse. Erb selbst weist auf diese Verhältnisse hin, indem er bemerkt, daß es sehr auf die zeitlichen Verhältnisse der Blutentnahme ankommt. So schreibt er z. B. bei einem sehr genau durchgeführten Versuch: „Der Versuch zeigt, daß im arteriellen Blut bei der ersten Suprarenininjektion eine halbe Minute später, bei der zweiten Suprarenininjektion eine Minute später noch keine Bluteindickung nachweisbar ist!" Im allgemeinen findet Erb, daß man die Bluteindickung erst ein bis zwei Minuten nach Beginn der Drucksteigerung nachweisen kann, und daß das Maximum der Blutkonzentration erst erreicht wird, wenn der Druck wieder abgesunken ist. Diese Langsamkeit des Eintretens der Bluteindickung nach Adrenalininjektion ist sehr auffallend. Ich habe daher eine Reihe von Versuchen hierüber angestellt.

Zur Methodik ist nur wenig zu bemerken. Ich bediente mich eines sehr wirksamen Nebennierenpräparates, nämlich des Hämostasins des Schweizer Seruminstituts zu Bern. Wie Erb habe ich Blut aus der Carotis zu meinen Bestimmungen des Trockengehaltes benutzt. Um die Wirkung des Adrenalins auf die Vagi auszuschalten und so den höchsten jeweilig erreichbaren Druckwert zu erzielen, habe ich meist vor Beginn des Versuchs eine subcutane Atropininjektion gemacht. In einigen Versuchen, es sind dies die ersten, hatte das betreffende Tier zu Versuchen an der Pankreasdrüse gedient, weshalb der Blutdruck ohne Adrenalininjektion recht niedrig war. Ein solcher Versuch ist z. B. der nachfolgende Nr. 8.

[1]) R. Elliott, Journ. of Physiol. 32, 401, 1905.

Versuch 8.

Katze, $3^3/_4$ Pfund. Äthernarkose. Hirudininjektion 11^h bis $11^h 3'$, 0,04 g Hirudin aufgelöst in 20 ccm Kochsalzlösung. Vor der ersten Injektion Blutdruck 24 mm.

Nr.	Zeit der Adrenalin-injektion	Zeit der Blutentnahme	Blut-druck	Feste Substanz %
I	$11^h 32' 0''$	$11^h 32' 30''$ bis $11^h 32' 45''$	64	18,57
II	—	$11^h 35' 40''$ „ $11^h 36' 0''$	24	18,00
III	$11^h 37'$	$11^h 37' 30''$ „ $11^h 37' 55''$	74	18,43
IV	—	$11^h 42' 25''$ „ $11^h 43' 30''$	32	18,36
V	Asphyxie ausgeübt	$11^h 48'$ „ $11^h 49'$	50	18,53

In diesem Versuch ist folgendes bemerkenswert. Im allgemeinen ist bei höherem und niederem Druck der Trockengehalt des Blutes ziemlich der gleiche. Probe III zeigt im Einklang mit Erb, daß eine halbe Minute nach der Adrenalininjektion bei einer Drucksteigerung von 50 mm keine wesentliche Eindickung des Blutes stattgefunden hat. Auf das Nichteintreten einer Bluteindickung bei Asphyxie und Blutdrucksteigerung mache ich voraus hier nur aufmerksam. Ganz ähnlich liegt die Sache bei Versuch 9.

Versuch 9.

Katze, 2 kg. Hirudininjektion $3^h 1'$ bis $3^h 7'$. Äthernarkose. Durchschneidung der Vagi.

Nr.	Zeit der Adrenalin-injektion	Zeit der Blutentnahme	Druck	Feste Substanz %
I	$3^h 56'$	$3^h 56' 30''$ bis $3^h 56' 50''$	78	13,74
II	$4^h 1'$	$4^h 3'$	118	13,84
III	—	$4^h 7'$ „ $4^h 8'$	64	13,53

Man sieht, daß bei einem Druck von 78 mm, 118 mm und 64 mm Quecksilber der Trockengehalt des Blutes nicht wesentlich verschieden ist. Die beiden höheren Werte sind die Folge von Adrenalininjektion. In Probe II ist zwei Minuten nach der Adrenalininjektion noch keine Bluteindickung nachweisbar. Noch instruktiver ist Versuch 10.

Versuch 10.

Katze 2 kg. Äthernarkose.

Nr.	Zeit der Adrenalin-injektion	Zeit der Blut-entnahme	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	—	$3^h 20' 25''$ bis $3^h 20' 28''$	90	17,37	—
II	—	$3^h 22' 45''$ bis $3^h 22' 48''$	90	17,20	mit Asphyxie
III	—	$3^h 26' 15''$ bis $3^h 26' 18''$	110	16,98	mit Asphyxie 45 Sekunden
IV	—	$3^h 29' 45''$ bis $3^h 29' 48''$	70	17,11	$3^h 34'$ 5 ccm 1‰ige Atropinlösung
V	$3^h 38'$ und $3^h 40'$	$3^h 41' 45''$ bis $3^h 41' 48''$	104	16,23	—
VI	—	$3^h 46' 0''$ bis $3^h 46' 3''$	62	16,35	—
VII	$3^h 48'$	$3^h 51' 40''$ bis $3^h 51' 45''$	102	16,41	—

Proben I bis IV sind unter dem Einfluß von Asphyxie entnommen. Diesen Teil des Versuchs werde ich später besprechen. $1\,^3/_4$ Minuten nach der ersten Adrenalininjektion, die den Blutdruck von 70 auf 104 mm gebracht hat, ist der Trockengehalt des Blutes nur 16,23%, während er vorher 17,11% betrug. Eine zweite Adrenalininjektion erhöht den Druck von 62 mm auf 102 mm. Obwohl aber die Blutentnahme erst $3\,^3/_4$ Minuten nach der Adrenalininjektion erfolgt, ist eine Zunahme des Trockengehaltes im Blut nicht nachweisbar. Bei diesem Versuch fiel es beiläufig auf, daß die sekretorische Wirkung des Adrenalins nicht zur Beobachtung kam.

Im Versuch 11 ist durch eine erste Adrenalininjektion um $4^h 51' 30''$ der Blutdruck von 40 mm auf 150 mm erhöht worden. Der Trockengehalt beträgt $2' 15''$ nach der Injektion nur 15,93%. Etwa 2 Minuten danach beträgt bei einem Blutdruck von 44 mm der Trockengehalt 15,61%. Erb erklärt diese Persistenz des hohen Trockengehaltes bei großer Blutdrucksenkung aus einer Permeabilitätsveränderung der Gefäße infolge der Adrenalininjektion.

Versuch 11.

Katze, 2 kg. Äthernarkose. Hirudin 0,05 g. 4ʰ 15′.

Nr.	Zeit der Adrenalin-injektion	Zeit der Blut-entnahme	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	4ʰ 51′ 30″	4ʰ 53′ 45″ bis 4ʰ 53′ 52″	150	15,93	Druck vor Adrenalin-injektion 40
II	—	4ʰ 55′ 20″ bis 4ʰ 55′ 28″	44	15,61	—
III	4ʰ 58′ 30″	4ʰ 59′ 40″ bis 4ʰ 59′ 55″	124	14,93	—
IV	—	5ʰ 4′ 10″ bis 5ʰ 4′ 18″	44	15,01	—

Lassen wir die Erklärung einen Augenblick auf sich beruhen, denn sie erklärt jedenfalls nicht, warum eine zweite Adrenalininjektion, die den Blutdruck von 44 mm auf 124 mm im Maximum bringt, nicht allein keine Bluteindickung verursacht, sondern nicht einmal eine Verminderung des Trockengehaltes von 15,61% auf 14,93% verhindert. Nun könnte mit Erb angenommen werden, daß die Zeit von 1½ Minuten, die zwischen der zweiten Adrenalininjektion und Blutentnahme verstrich, zu kurz gewesen sei. Aber selbst 5 Minuten später ist, wie Probe IV zeigt, der Trockengehalt nicht höher als 15,01.

Versuch 12.

Katze, 2½ kg. Äthernarkose. Hirudininjektion 0,06 g gelöst in 25 ccm Kochsalzlösung.

Nr.	Zeit der Adrenalin-injektion	Zeit der Blut-entnahme	Blut-druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	—	2ʰ 53′	196	18,60	—
II	2ʰ 57′ bis 3ʰ 0′	3ʰ 1′ 40″ bis 3ʰ 1′ 45″	296	18,70	—
III	3ʰ 6′ 30″	3ʰ 8′ 0″ bis 3ʰ 8′ 5″	296	18,53	Atropin- und Adrenalin-lösung
IV	—	3ʰ 12′	120	18,67	—

Recht bemerkenswert ist das Ergebnis von Versuch 12. Hier wird $1^3/_4$ Minuten nach der ersten Adrenalininjektion die Blutentnahme gemacht. Trotzdem zeigt sich trotz der riesigen Druckzunahme von 100 mm (nämlich von 196 mm Quecksilber auf 296 mm) auch nicht die geringste Zunahme des Trockengehaltes des Blutes. Die Adrenalininjektion wird 6 Minuten später wiederholt, bringt wiederum den Blutdruck auf 296 mm, und Blut wird $1^1/_2$ Minuten später entnommen. Der Gehalt an Trockensubstanz bleibt aber konstant. Er bleibt es bis auf 4 Minuten später, nachdem der Druck inzwischen auf 120 mm Quecksilber heruntergegangen war.

Die ganze Reihe meiner bisher mitgeteilten Versuche hat also ergeben, daß nach Adrenalininjektion Bluteindickung nicht stattgefunden hat. Diesen Befunden stehen entgegen die Angaben von Hess, von Erb und von Asher. Es könnte daher daran gedacht werden, ob nicht die Ursachen in meiner Methodik lägen, aber diese Vermutung, für welche bei sorgfältigster Berücksichtigung aller Fehlerquellen ich keinen Anhaltspunkt gefunden habe, wird überdies widerlegt, da ich auch in der Lage bin, einen positiven Versuch zu bringen.

In diesem Versuch leitete mich die Überlegung, daß es vielleicht gelingen würde, die von anderen beobachtete und von mir bisher vermißte Bluteindickung nach Adrenalininjektion zu erhalten, wenn ich noch mehr Zeit zwischen Adrenalininjektion und Blutentnahme verstreichen ließe, als in den vorausgegangenen Versuchen. Diese Überlegung führte auch zum Ziel, denn man sieht in Probe V und VI des Versuchs 13 eine sehr ausgeprägte Zunahme des Trockengehaltes des Gesamtblutes, indem die Werte 20% und 20,7% erreicht werden, gegenüber 19,2% der Probe kurz vorher. Bedenkt man, daß bei Katzen an und für sich im längeren Verlauf eines Versuchs mit mehrfachen, wenn auch geringfügigen Blutentnahmen eine fortschreitende Abnahme des Trockengehaltes des Gesamtblutes eintritt, so bedeutet die Zunahme von mehr als 1% an Trockengehalt ziemlich viel. Was die zeitlichen Verhältnisse betrifft, so stehen die Proben IV, V und VI unter dem Einfluß wiederholter und langandauernder Adrenalinwirkung. Ferner verstreichen mehrere Minuten zwischen Adrenalininjektion und Blutentnahme. Die letztere fand statt, nachdem der

Versuch 13.

Katze, 2 kg. Äthernarkose.

Nr.	Zeit der Adrenalin-injektion	Zeit der Blut-entnahme	Blut-druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	—	$3^h\,15'\,45''$ bis $3^h\,15'\,47''$	134	19,9	Der Druck betrug zuerst 134, dann auf Injektion von Adrenalin 210, durch Erbrechen Fall auf 50—30, dann wieder Steigen des Druckes
II	$3^h\,18'\,10''$ bis $3^h\,18'\,12''$	$3^h\,22'\,30''$ bis $3^h\,22'\,33''$	gefallen 30—50	19,5	
III	—	$3^h\,26'\,5''$ bis $3^h\,26'\,8''$	100	19,1	
IV	$3^h\,27'\,50''$	$3^h\,31'\,15''$ bis $3^h\,31'\,19''$	110	19,2	Adrenalin- und Atropinlösung
V	$3^h\,38'\,35''$	$3^h\,41'\,30''$ bis $3^h\,41'\,35''$	170	20,0	—
VI	$3^h\,49'\,45''$ bis $3^h\,50'\,50''$	$3^h\,53'\,30''$ bis $3^h\,53'\,32''$	166	20,7	—
VII	—	$4^h\,3'\,40''$ bis $4^h\,3'\,43''$	70	19,4	Nach Probe VII in 40 Sekunden 42 ccm Blut entzogen, unmittelbar darauf Probe VIII und $1^3/_4$ Minuten später Probe IX
VIII	—	$4^h\,4'\,30''$ bis $4^h\,4'\,33''$	26	18,9	
IX	—	$4^h\,6'\,15''$ bis $4^h\,6'\,17''$	26	19,1	—

Druck schon erheblich von seiner maximalen, durch Adrenalin erreichten Höhe herabgesunken war. Bei Probe VI wurde die Blutentnahme 4 Minuten nach der Adrenalininjektion gemacht. Zwischen der Probe I und II ereignete sich eine Störung, die aber zu einer nicht uninteressanten Beobachtung führte. Das Tier erbrach nach der ersten Adrenalininjektion, die eine Drucksteigerung bis auf 210 mm bewirkte, heftig, und der Blutdruck sank rapid auf 50 bis 30 mm Quecksilber. 4 Minuten später wurde bei diesem tiefen Blutdruck eine Blutentnahme vorgenommen. Der Trockengehalt betrug 19,5, während vorher bei 134 mm der Trockengehalt 19,9% war. Man kann daher nicht sagen, daß der große Drucksturz zu einem merklichen Flüssigkeitseintritt aus den Geweben in die Blutbahn geführt hat. Nun hat ja Erb für dieses Nichteintreten einer Wiederverdünnung des Blutes bei Drucksenkung eine Erklärung gegeben, indem er im Anschluß an die Untersuchung von

A. Exner[1]) und Meltzer und Auer[2]) annimmt, daß das Nebennierenextrakt die Permeabilität der Capillarendothelien verringert, und zwar auf längere Zeit hinaus. Es wäre zu prüfen, ob diese Annahme, die den Capillarendothelien neben den mechanischen Momenten der Druckschwankungen eine wichtige Rolle zuweist, zutrifft. Ehe ich aber zu dieser Prüfung, wie zu derjenigen der Frage nach dem Flüssigkeitseintritt in die Blutgefäße übergehe, möchte ich zusammenfassen, was über den Zusammenhang zwischen Adrenalininjektion, Blutdrucksteigerung und Bluteindickung aus meinen Versuchen sowie denjenigen anderer Autoren sich ergibt.

Unzweifelhaft besteht kein notwendiger Zusammenhang zwischen Blutdrucksteigerung nach Adrenalininjektion und Bluteindickung, das haben meine Versuche gelehrt. Liegt das in den zeitlichen Verhältnissen? Die Versuche von Asher an der Speicheldrüse haben gelehrt, daß eine sehr kurz dauernde Tätigkeit der Speicheldrüse z. B. von nur 1 Minute hinreicht, um das durch die Speicheldrüse strömende Blut und Blutplasma ebenso merklich einzudicken wie Hess und Erb das nach Adrenalininjektion mit hoher Drucksteigerung beschreiben. Demnach ist für einen physiologischen Vorgang, bei dem übrigens nachweisbar die Filtration keine Rolle spielt, sondern möglicherweise die Diffusion, die Beeinflussung des Flüssigkeitsaustausches zwischen Blut und Geweben leicht nachweisbar. Dies beweist, wie rasch der Vorgang durch die Gefäßwand hindurch sich abspielt. Wenn demnach Filtration eine Rolle spielte, müßte sie ebenso schnell wirken. Nun hat Asher gezeigt, daß bei Blutdrucksteigerung infolge von hoher Aortenkompression und von Reizung der Vasodilatoren, ich habe nachgewiesen, daß bei Drucksteigerung infolge von Splanchnicusreizung und in einigen Fällen infolge von Adrenalininjektion keine Filtration aus den Gefäßen nachweisbar ist. (Ich werde im nächsten Teil zeigen, daß es auch nicht der Fall ist bei Drucksteigerung durch Asphyxie.) Alles das scheint dafür zu sprechen, daß in denjenigen Fällen, wo nach Adrenalininjektion eine Zunahme des Trockengehaltes des Blutes tatsächlich be-

[1]) A. Exner, Zeitschr. f. Heilk. 24, 302, 1903.

[2]) Meltzer und Auer, Transact. of the association of Amer. Physiol. 1904.

obachtet wird, dies nicht eine Folge der Blutdrucksteigerung ist. Für diese Anschauung sprechen gerade die zeitlichen Verhältnisse. Man beobachtet die Zunahme des Trockengehaltes des Blutes nach Adrenalininjektion erst einige Minuten nach der Injektion am deutlichsten, wenn der Blutdruck schon herabgesunken ist. Ich möchte daher die Adrenalinwirkung im Anschluß an Ashers frühere Darlegungen folgendermaßen erklären. Unter dem Einfluß des Adrenalins werden in Drüsen und anderen Organen eine Reihe von Stoffwechselvorgängen zum Teil ziemlich intensiver Art angeregt. Diese werden an und für sich infolge Diffusions- und osmotischen Prozesses, vielleicht auch infolge noch nicht klargelegter Prozesse Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Gewebe hervorrufen. Da nun aber wegen der hochgradigen Verengerung der kleinsten Arterien der Capillarkreislauf sehr beeinträchtigt wird, kommt anfänglich die Eindickung des Blutes durch Diffusion oder Osmose nicht zum Ausdruck. Erst wenn einige Zeit nach der Adrenalininjektion die maximale Verengerung der kleinsten Arterien abklingt und bei sinkendem Blutdruck ein guter Capillarkreislauf wieder hergestellt wird, kommt es zur nachweisbaren Eindickung des Blutes. Durch diese Erklärung fügen sich die Erscheinungen bei Adrenalininjektion widerspruchslos in den Zusammenhang der bisher negativen und positiven Tatsachen und bilden keine Ausnahmestellung mehr.

Meiner Erklärung steht nur noch entgegen die Annahme von Erb, daß Adrenalininjektion die Permeabilität der Capillarendothelien verringere und deshalb der Filtrationseinfluß nicht sofort zur Geltung komme. Es leuchtet aber ein, daß die oben von mir gegebene Erklärung und die Erbsche Annahme sich sehr wohl miteinander vertragen; denn wenn, was möglich ist, die Permeabilität der Capillarendothelien durch Adrenalin verringert wird, so muß natürlich auch der etwaige Diffusionsaustausch infolge von Stoffwechselvorgängen darunter leiden. Man kommt also ohne jede Annahme verzögerter Filtration aus. Übrigens möchte ich darauf hinweisen, daß es den Anschein hat, als ob in manchen Fällen bei der Katze die Adrenalininjection einen geringeren Einfluß auf die sekretorischen Vorgänge habe als bei dem Hunde. Ich habe gelegentlich in meinen Protokollen vermerkt, daß Tränen- und

Speichelsekretion nicht beobachtet wurden. Unter diesen Umständen muß die Zunahme des Trockengehalts des Blutes entsprechend geringer sein.

Es bleibt nun noch zu untersuchen, wie es denn mit der Permeabilität der Capillarendothelien stehe, mit der Geschwindigkeit, mit welcher sich Flüssigkeitsaustausche bewerkstelligen. An dieser Stelle nehme ich die oben abgebrochene Diskussion hierüber wieder auf. Zunächst einmal die Frage nach der Permeabilität der Capillarendothelien nach Adrenalininjektion. Aus Erbs eigenen Versuchen geht die Verminderung der Permeabilität nicht mit Sicherheit hervor. Er betrachtet die lange Andauer der Zunahme des Trockengehaltes im Blut als ein Anzeichen für diese verminderte Permeablität. Tatsächlich aber hat er in vier Versuchen bei Sinken des Blutdrucks kein Sinken der Blutkonzentration gefunden, wohl aber in drei anderen. Hierdurch entsteht ein eigentümlicher Widerspruch. Im ersteren Fall wird das Verhalten erklärt durch Rückfiltration infolge von Blutdrucksenkung, trotz verminderter Permeabilität der Capillarendothelien. Im zweiten Fall durch eben diese verminderte Permeabilität, trotz großer Blutdrucksenkung. Hier liegt offenbar eine große Schwierigkeit vor.

Um nun den Einfluß dieser angenommenen verminderten Permeabilität zu prüfen, habe ich untersucht, wie es sich bei einem vorher mit Adrenalin behandelten Tier mit der Blutverdünnung verhält, wenn man einen Blutentzug macht. Daß infolge eines Blutentzuges mehr oder weniger rasch ein Eintritt von Gewebsflüssigkeit in die Blutbahn stattfindet, ist eine im Verlauf der letzten Jahre vielfach bestätigte und analysierte Tatsache. Der vorliegende Versuch 13 (siehe oben Protokoll) lehrt nun folgendes: Bei Entnahme von Blutprobe VII betrug der Blutdruck 70 mm, der Trockengehalt des Blutes 19,4 %. Sofort darauf wurden 42 ccm Blut entzogen, und zwar in 40 Sekunden. Am Schlusse der 40 Sekunden wurde in 3 weiteren Sekunden eine Blutentnahme gemacht. Der Druck sank von 70 auf 27 mm, der Trockengehalt von 19,4 % auf 18,9 %. Also hatten 40 Sekunden genügt, um den Trockengehalt um $^1/_2$ % zu vermindern. Demnach kann die Permeabilitätsverminderung keinen so hohen Grad erlangt haben. 2 Minuten später, während der Blutdruck auf dem niedrigen Wert von

26 bleibt, ist der Trockengehalt des Blutes wieder auf 19,1 % gestiegen, woraus geschlossen werden darf, daß es nicht die Blutdrucksenkung als solche war, die eine Rückfiltration verursachte. Ich möchte nicht in Abrede stellen, daß Adrenalin die Permeabilität der Capillarendothelien überhaupt nicht vermindere, nur scheint es mir, daß diese etwaige Verminderung nicht hinreichend groß ist, daß dann, wenn wirklich im Organismus ein Flüssigkeitsaustausch zwischen Bluts- und Gewebsflüssigkeit stattzufinden Gelegenheit hat, dieser Austausch unterdrückt werden kann.

Ganz abgesehen von der soeben behandelten Frage nach der Permeabilität der Capillarendothelien nach Adrenalininjektion läßt sich, wie dies auch schon früher geschehen ist, die Veränderung der Blutzusammensetzung nach Blutentzug benutzen, um allgemein gewisse Fragen der Gefäßpermeabilität zu untersuchen. Mir kommt es in diesem Zusammenhange in erster Linie auf eine genaue Berücksichtigung der zeitlichen Verhältnisse an. Zu diesem Zweck habe ich wie im Versuch 13 in zwei weiteren Versuchen den Trockengehalt des Blutes bei einem bestimmten Blutdruck festgestellt zu einer auf Sekunden genau bekannten Zeit. Darauf habe ich, wiederum unter genauer Bestimmung der Sekundenzahl, eine gewisse Menge Blut entnommen und das in den letzten Sekunden des Blutentzugs ausfließende Blut zur Analyse benutzt. Nach mehreren Minuten wurde dann abermals ein kleiner Blutentzug zur Analyse gemacht. In den später folgenden Protokollen der Versuche 17 und 18, welche vorher einem anderen Zwecke, der bald auseinandergesetzt werden wird, diente, finden sich die notwendigen Daten. An dieser Stelle ziehe ich das für die augenblickliche Diskussion Wichtige heraus. In Versuch 17 betrug der Blutdruck Probe V um $11^h 35' 55''$ bis $11^h 35' 58''$ 62 mm Quecksilber. Der Trockengehalt des Blutes betrug 16,6 %. Von $11^h 34' 50''$ bis $11^h 35' 15''$ wurden 21,5 ccm Blut entzogen. Der Druck betrug $11^h 35' 17''$ bis $11^h 35' 18''$ 22 bis 24 mm Quecksilber, der Trockengehalt 15,9 %. Es hatten also 28 Sekunden genügt, um den Trockengehalt des Blutes um 0,7 % zu vermindern. In Versuch 18, Probe V, betrug um $3^h 57' 35''$ bis $3^h 57' 37''$ der Blutdruck 102 mm; der Trockengehalt des Blutes war zu dieser Zeit 17,4 %. Von $3^h 57' 40''$ bis $3^h 58' 4''$ wurden 20 ccm Blut

entzogen und von $3^h 58' 6''$ bis $3^h 58' 8''$ eine ganz geringe Menge im Wägegläschen aufgefangen. Der Druck sank auf 36 mm, der Trockengehalt auf 16,4%. Es hatten also 28 Sekunden genügt, um den Trockengehalt des Blutes um ein ganzes Prozent zu vermindern. Aus diesen beiden Versuchen, wie aus Versuch 13 geht deutlich hervor, daß außerordentlich kleine Zeiten dazu gehören, um sehr merkliche Veränderungen in der Zusammensetzung des Blutes hervorzurufen. Der Regulationsmechanismus, der bei Blutentzug in das Spiel tritt, ist so oft erörtert worden, daß eine Besprechung desselben an dieser Stelle wohl unterbleiben kann. Aber es ist darauf hinzuweisen, daß die große Raschheit, mit welcher Flüssigkeit aus den Geweben in die Blutbahn übertritt, den Schluß zuläßt, daß, wenn etwa die Drucksteigerung in den Capillaren als Filtrationskraft wirken würde, der Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen wegen der soeben nachgewiesenen Eigenschaft der Capillarendothelien in sehr kurzer Zeit eintreten und bemerkbar sein würde. Wenn demnach in gewissen Fällen bei einzelnen Eingriffen bei gleichzeitiger Drucksteigerung erst allmählich eintretende Konzentrationszunahme des Blutes beobachtet wird, spricht das sehr dagegen, daß die Konzentrierung durch Filtration zustande kam. Andererseits sprechen die soeben besprochenen Tatsachen sehr zugunsten der Richtigkeit der von Asher und mir gemachten negativen Beobachtung hinsichtlich des Einflusses der innerhalb physiologischer Grenzen sich haltenden Blutdruckschwankung auf die Zusammensetzung des Blutes. In meinem dritten Teil werde ich neue Beweise hinzufügen.

Durch diese bisherigen Darlegungen ist aber die Frage nicht erledigt, ob Blutdrucksenkungen ohne gleichzeitigen Blutverlust eine Rückfiltration aus der Gewebsflüssigkeit in die Blutbahn veranlassen. Es ist einleuchtend, daß der Vorgang einen höchst zweckmäßigen Regulationsmechanismus darstellen würde, denn durch den Flüssigkeitseintritt in die Blutbahn bei niedrigerem Blutdruck würde dem Sinken des Capillardrucks entgegengewirkt werden. Man kann sich ganz gut vorstellen, daß die Capillaren so eingerichtet sein könnten, daß sie infolge Blutdruckerniedrigung in einen Zustand kämen, der den Flüssigkeitseintritt begünstigte. Notwendigerweise muß aber die bloße Blutdrucksenkung nicht zu einer Verdünnung des Blutes führen.

Erb hat ja selbst Fälle angeführt, wo bei Blutdrucksenkung keine Verdünnung des Blutes nachweisbar war. Auch ich habe öfters Beobachtungen gemacht, wo bei recht niedrigem Blutdruck die Konzentration des Katzenblutes viel höher war, als ich es oft bei höherem Blutdruck beobachtet habe. Als Beleg hierfür bringe ich z. B. nachfolgenden Versuch 14.

Versuch 14.

Katze, 2 kg. Äthernarkose. 0,05 g Hirudin, aufgelöst in 25 ccm Kochsalzlösung, gegeben $3^h 46'$ bis $3^h 48'$.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %
I	$4^h 21' 10''$ bis $4^h 21' 20''$	70	18,78
II	$4^h 28' 10''$ „ $4^h 28' 35''$	60	18,19
III	$4^h 34' 20''$ „ $4^h 34' 59''$	50	18,18

Der Blutdruck war hier nach einer sehr eingreifenden Operation zu einem bestimmten Zweck auf dem niedrigen Wert zu Anfang 70, schließlich 50 mm Quecksilber angelangt. Trotzdem und trotz vorausgehender Verdünnung durch Hirudinkochsalzlösung ist der Trockengehalt des Blutes zu Anfang 18,78 %, er sinkt dann aus früher angegebenen Gründen allmählich auf 18,2. Erfahrungen wie die in diesem Versuch niedergelegten sind zahlreiche im Institut gemacht worden. Sie sprechen, wie mir scheint, dagegen, daß bei einer Blutdruckschwankung durch Rückfiltration eine Verdünnung des Blutes stattfinden muß. Aber auch von einer anderen Seite her läßt sich ein Anhaltspunkt dafür bringen, daß nicht Herabsetzung des Capillardrucks den Trockengehalt des Blutes vermindern muß. Es gelingt nämlich umgekehrt zu zeigen, daß trotz sinkenden Capillardrucks eine Zunahme des Trockengehaltes des Blutes eintreten kann; demnach das umgekehrte, was nach der Lehre von der mechanischen Rückfiltration zu erwarten gewesen wäre. Den Beleg hierfür bringt der nachfolgende Versuch 15.

Der Versuch selbst stammt aus einer anderweitigen Versuchsreihe am Hund, welche Madame Cuttat mit Prof. Asher angestellt hat. Mir war es verstattet, gleichzeitig für meine Versuchszwecke Blut zu entnehmen. Der Hund, welcher gleich-

Versuch 15.

Hund, 15 kg. Morphium- und Äthernarkose.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	$10^h 7'$	390	16,101	10^h = 50 ccm 10% NaCl-Lösung
II	$10^h 12'$	156	6,643	$10^h 3'$ = 50 „ 10% „
III	$10^h 22'$	160	17,279	$10^h 8'$ Blutentzug von 335 ccm
IV	$10^h 52'$	40	17,983	$10^h 32'$ „ „ 110 „

zeitig eine Fistel des Ductus thoracicus hatte, erhielt um 10^h und $10^h 3'$ eine intravenöse Injektion von 10% Kochsalzlösung. Die Folge war eine starke Erhöhung des Capillardrucks, welche nach dem Vorgang von Bayliss und Starling durch Messung des Drucks in der Vena lienalis beurteilt wurde. Die bekannten und sehr interessanten Folgen einer Injektion hypertonischer Lösung sind hydrämische Plethora und erhöhter Capillardruck. Dementsprechend findet sich um $10^h 7'$ ein Blutdruck in der Vena lienalis von 390 mm Magnesiumsulfat und ein Trockengehalt des Blutes von nur 16,101%. Um $10^h 8'$ werden 335 ccm Blut entzogen. Durch diesen Blutentzug wird der abnorm gesteigerte Capillardruck stark herabgesetzt, und dementsprechend verzeichnet das Manometer in der Vena lienalis nur noch 156 mm Magnesiumsulfat. Der Druckfall und der Entzug von so viel Blut müßten nun eigentlich eine Verdünnung des Blutes herbeiführen. Trotzdem geschieht das Gegenteil, indem bis $10^h 12'$ der Trockengehalt des Blutes schon wieder auf 16,643% gestiegen ist. Um $10^h 22'$ ist der Portaldruck, demnach auch der Capillardruck, annähernd der gleiche wie vorher. Der Trockengehalt steigt aber weiter bis auf 17,279%. Um $10^h 32'$ werden abermals 110 ccm Blut entzogen. Der Portaldruck ist um $10^h 52'$ bis auf 40 mm Magnesiumsulfat gefallen. Im Gegensatz hierzu sehen wir, daß der Trockengehalt des Blutes den höheren Wert von 17,983% erreicht hat. Unzweifelhaft ist durch diesen Versuch bewiesen, daß trotz eines riesigen Falles des Capillardrucks, der beurteilt werden kann nach den beiden Grenzwerten 390 und 40 mm Magnesiumsulfat eben während dieser Periode des Falles eine Bluteindickung

von 16,101 % bis auf 17,983 % stattgefunden hat. Von einer Rückfiltration infolge verminderten Capillardrucks kann dieses mal jedenfalls keine Rede sein.

Es könnte danach gefragt werden, aus welchem Grunde in diesem Versuch der große Blutentzug nicht zu einer Verdünnung geführt hat. Es ist hier nicht der Ort, diese etwas komplizierte Frage eingehend zu erörtern. Mir kam es vielmehr darauf an, festzustellen, daß nicht notwendigerweise Fallen des Capillardrucks und Sinken des Trockengehaltes des Blutes Hand in Hand gehen. An der Kompensierung der Verdünnung durch Blutentzug haben wohl mehrere Faktoren mitgewirkt. Asher und Tropp[1]) und Sollmann[2]) haben gezeigt, daß nach intravenöser Injektion größerer Mengen von Salzen in das Blut dieselben zwar bald die Blutbahn verlassen (was durch zahlreiche frühere Autoren bekannt war), aber anstatt dessen nicht injizierte Substanzen aus den Geweben in die Blutbahn übertreten. Das wird durch die Tatsache bewiesen, daß im Verlauf derartiger Versuche die molekulare Konzentration gemessen durch die Gefrierpunktserniedrigung mehr und mehr wächst. Ferner kommt es, wie zuerst Cohnheim und Lichtheim in ihrer bekannten Arbeit über hydrämische Plethora gelehrt haben, durch hydrämische Plethora, also auch durch intravenöse Injektion, die noch stärker infolge des Reizes durch die Salzmoleküle wirken muß, zur profusen Sekretion. Sekretion bewirkt aber einen sehr merklichen Flüssigkeitsaustritt aus den Capillaren. Ob noch andere Momente zu der Eindickung des Blutes bei sinkendem Capillardruck unter den Bedingungen des vorliegenden Versuchs befähigt sind, etwa Änderungen der Permeabilität, lasse ich dahingestellt sein.

III. Teil.

Der Einfluß von Asphyxie auf die Permeabilität der Capillaren.

Der Asphyxie habe ich mich als eines weiteren Mittels bedient, um allgemeine Blutdrucksteigerung herbeizuführen. Der Einfluß, den die Blutdrucksteigerung aber etwa auf den

---

[1]) Asher und Tropp, Zeitschr. f. Biol. 45, 143.

[2]) Sollmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 1.

Flüssigkeitsaustritt haben konnte, war aber nicht der wesentliche Gesichtspunkt, der mich zur Anwendung der Asphyxie veranlaßte. Vielmehr war es die Absicht, den Einfluß der Kohlensäure auf die Permeabilität der Capillaren zu prüfen. Es wird sehr oft behauptet, daß die sauren Stoffwechselprodukte der Gewebe, von denen die Kohlensäure das elementarste ist, einen hervorragenden Einfluß auf die Permeabilität besäßen und ihrem Eingreifen die Regelung des Stoffaustrittes aus den Capillaren zuzuschreiben sei. Die Methodik dieser Versuchsreihe ist eine sehr einfache. Beim tracheotomierten Tiere wird abwechselnd bei geöffneter und geschlossener Trachealkanüle Blut aus einer Arterie behufs Bestimmung des Trockengehaltes aufgefangen. Der Verschluß der Trachealkanüle dauert so lange, bis das Blut asphyktisch dunkel geworden und der Blutdruck stark gestiegen ist. Gewöhnlich geht er kurz nach der Freigabe der Trachea noch mehr in die Höhe, um dann allmählich wieder zu fallen.

Schon oben gelegentlich anderer Versuche hatte ich den Einfluß der Asphyxie geprüft. Ich verweise auf Probe V des Versuchs 8 und auf die Proben I bis IV des Versuchs 10. Namentlich aus dem letzteren Versuch geht sehr deutlich hervor, daß mit und ohne Asphyxie der Trockengehalt des Blutes annähernd konstant ist. Er schwankt zwischen 16,98 % und 17,37 %. Die Druckschwankungen in diesem Versuch sind nicht sehr erhebliche, so daß rein der Einfluß der Änderungen der Blutzusammensetzung zum Ausdruck hätte kommen können.

Hieran schließe ich drei weitere Versuche, welche dem Einfluß der Asphyxie auf die Permeabilität der Capillaren gewidmet waren. Da die Verhältnisse in allen dreien sehr ähnlich lagen und dieselben wegen der Durchsichtigkeit des Ergebnisses keiner besondern Besprechung bedürfen, folgen die Protokolle an dieser Stelle hintereinander.

Im Versuch 16 sind die Druckschwankungen nicht sehr erheblich, wohl aber im Versuch 17 und 18. Im ersteren kommen Druckschwankungen von über 70 mm Druck, in letzterem einmal von über 100 mm Druck vor. Im Versuch 18 wurde die Wirkung der Asphyxie noch erhöht durch Atropinisierung, wodurch die Erregung des Vagus infolge Asphyxie ausgeschaltet wird.

Versuch 16. Katze, 2 kg. 0,05 g Hirudin, gelöst in 30 ccm Kochsalzlösung. Äthernarkose.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	$4^h 13'55''$ bis $4^h 13'59''$	74	16,584	—
II	$4^h 15'45''$ „ $4^h 15'49''$	90	16,351	mit Asphyxie
III	$4^h 16'10''$ „ $4^h 16'14''$	48	16,220	—
IV	$4^h 19'1''$ „ $4^h 19'5''$	60	16,122	mit Asphyxie

Versuch 17. Kaninchen, 2 kg. Morphiumnarkose. Atropininjektion 1 mg subcutan.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	$11^h 18'0''$ bis $11^h 18'10''$	60	16,8	—
II	$11^h 19'50''$ „ $11^h 19'53''$	130	16,4	mit Asphyxie
				$11^h 18'50''$ bis $11^h 19'45''$
III	$11^h 26'30''$ „ $11^h 26'34''$	60	16,8	—
IV	$11^h 29'12''$ „ $11^h 29'15''$	140	16,5	mit Asphyxie
				$11^h 28'8''$ bis $11^h 29'10''$
V	$11^h 33'55''$ „ $11^h 33'58''$	62	16,6	—
VI	$11^h 35'17''$ „ $11^h 35'18''$	124	15,9	Blutentzug 21,5 ccm
				$11^h 34'50''$ bis $11^h 35'\ 15'$
VII	$11^h 41'45''$ „ $11^h 41'48''$	44	15,6	—
VIII	$11^h 44'18''$ „ $11^h 44'20''$	120	15,8	mit Asphyxie
				$11^h 43'5''$ bis $11^h 44'10''$

Versuch 18. Kaninchen, $2^1/_2$ kg. Morphiumnarkose. $1^1/_2$ mg Atropinlösung.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	$3^h 20'40''$ bis $3^h 20'42''$	115	18,3	—
II	$3^h 23'17''$ „ $3^h 23'19''$	166	18,0	Asphyxie
				$3^h 22'14''$ bis $3^h 23'0''$
III	$3^h 29'10''$ „ $3^h 29'12''$	94	18,1	—
IV	$3^h 51'12''$ „ $3^h 51'14''$	158	17,8	Asphyxie
				$3^h 49'30''$ bis $3^h 50'30''$
V	$3^h 57'35''$ „ $3^h 57'37''$	102	17,4	Blutentzug 20 ccm
				$3^h 57'40''$ bis $3^h 58'4''$
VI	$3^h 58'6''$ „ $3^h 58'8''$	36	16,4	—
VII	$4^h 1'30''$ „ $4^h 1'34''$	24	16,1	—

Gleichgültig, ob nun der Druck hoch oder niedrig ist, ob Asphyxie besteht oder nicht, der Gehalt des Bluts an Trockensubstanz ändert sich nicht wesentlich. Hieraus folgt mit Notwendigkeit, daß weder infolge gesteigerten Druckes eine vermehrte Filtration stattgefunden hat, noch infolge der Wirkung der Asphyxie auf die Gefäßwände eine erhöhte Permeabilität zustande gekommen ist.

Der negative Befund hinsichtlich auch dieser Art von Drucksteigerung schließt sich meinen und Ashers früheren Erfahrungen gleichartig an. Neu und nicht uninteressant ist der Nachweis, daß Kohlensäureanhäufung im Blute die Permeabilität der Capillarendothelien nicht verändert. Hierdurch ist gezeigt worden, daß dieses allgemeinste Produkt des erhöhten Stoffwechsels nicht ein Beeinflusser der Permeabilität der Capillaren sei. Vielleicht liegt auch in seiner Allgemeinheit die biologische Ursache, weshalb es nicht geeignet ist, als Beeinflusser der Gefäßpermeabilität zu dienen, und weshalb die Gefäßwände sich an eine Beeinflussung nicht angepaßt haben. Jedes Gebiet hat besondere Bedürfnisse des stofflichen Umtausches zwischen Capillaren und Gewebe. Deshalb würde, wenn die Annahme vieler Autoren richtig ist, daß Stoffwechselprodukte der Gewebe die Permeabilität der Capillaren regeln, diese Regelung eher durch in jedem Fall spezifische Stoffwechselprodukte zu erwarten sein.

Es wird die Aufgabe künftiger Untersuchungen sein, den nach dieser Richtung ausgebildeten Arbeitshypothesen experimentell näher zu treten. Dann wird sich zeigen, ob man mit der angedeuteten Hypothese auf richtiger Fährte ist oder nicht. Es erscheint mir verfrüht, das negative Resultat hinsichtlich der Kohlensäure etwa verallgemeinern zu wollen.

IV. Teil.

Der Einfluß von intravenöser Injektion von Galle auf die Permeabilität der Capillaren.

In der früheren Arbeit von Asher war gezeigt worden, in welcher Art und Weise die spezifische Tätigkeit der Speicheldrüse zu markantem Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Gewebe führt. Es erschien erwünscht, auch andere Organ-

tätigkeit hinsichtlich ihres Mechanismus der Beeinflussung zu unterziehen. Vorversuche am Pankreas, die später wieder aufgenommen werden sollen, mußte ich aus äußeren Gründen fallen lassen. Ein anderes Organ, welches leicht der Beeinflussung zugänglich und zugleich ein Ort von größter Bedeutung für die Blutzusammensetzung ist, ist die Leber. Die Aufgabe wäre also, die Blutzusammensetzung ohne und mit experimentell angeregter Lebertätigkeit zu untersuchen. Diese Aufgabe ist nicht so leicht wie bei der Speicheldrüse, denn erstens kann man nicht beliebig die Lebertätigkeit ein- und ausschalten, zweitens ist das isolierte Auffangen von Lebervenenblut nicht ganz einfach.

Methodik.

Aus diesen genannten Gründen mußten einige besondere Vorkehrungen getroffen werden. Lebervenenblut kann man nach der von Lesser angewandten Methode erhalten, indem man ein Katheter in die rechte Jugularis einführt und denselben durch den rechten Vorhof vorschiebt, bis man in die Lebervene gelangt. Es ist aber ersichtlich, daß man während des Versuches niemals eine Garantie hat, daß man in der Lebervene ist, und daß kein Blut aus der Vena cava inferior sich zumischt. Wegen dieser Unsicherheit wurde von dieser Methode abgesehen und ein indirektes Verfahren angewandt. Dasselbe bestand im folgenden: Zuerst wurde die Aorta abdominalis unterhalb des Abgangs der Arteria mesenterica inferior beziehentlich vor der Teilung in die beiden Arteriae iliacae abgebunden; sodann wurde die Vena cava inferior etwa in der Höhe des unteren Randes der Niere ligiert. Ferner unterband ich die beiden Arterien und Venae subclaviae. Die Absicht, die hierbei verfolgt wurde, war die, möglichst den Kreislauf einzuschränken auf den Kreislauf durch das Pfortadergebiet und die Lunge. Auf diese Weise hatte bei weitem das meiste Blut, welches im großen Kreislauf kreiste, ehe es in das Herz gelangte, die Leber passiert. Würde nun die Leber der Ort größerer Umänderung in der Zusammensetzung des Blutes sein, so würde das so umgeänderte Blut in das rechte Herz kommen, von da durch die Lungen in das linke Herz und in die großen Arterien. Da wir durch Erb wissen, daß die im übrigen Körper gesetzten Ver-

änderungen der Blutzusammensetzung, wenn sie nur groß genug sind, nicht in der Lunge rückgängig gemacht werden, konnte man erwarten, daß das Blut aus der Carotis bei meiner Versuchsanordnung anzeigen würde, welche Änderungen das Blut etwa in der Leber erleidet. Ich habe also eine Kanüle in die eine Carotis gebunden, um Blut zur Bestimmung des Trockengehalts zu gewinnen. Die andere Carotis wurde mit dem Quecksilbermanometer behufs Aufschreibung des Blutdrucks verbunden. Eine Kanüle wurde in den Ductus choledochus eingebunden und die abfließende Galle in graduierten Gefäßen aufgefangen. Um die Lebertätigkeit anzuregen, injizierte ich in eine Vena jugularis einige Kubikzentimeter Galle, in einem Falle Rindergalle, in einem zweiten Versuche Hundegalle. Vorher wurden zwei Proben Blut entnommen als Kontrollblut, ehe die Leber durch die injizierte Galle zur erhöhten Tätigkeit angeregt worden war. Als Maß der Tätigkeit diente die abfließende Gallenmenge. Zu diesen Versuchen wurden Hunde benutzt, die sich in Morphiumäthernarkose befanden.

In beiden Versuchen ruhte im Anfang die Absonderung der Galle ganz, wohl ein Einfluß der Operation und Narkose. Durch die Injektion von Galle wurde die Absonderung angeregt. Sie steigerte sich langsam, erreichte ein ganz beträchtliches Maß und klang dann wieder ab. Die Versuche zerfallen demnach in zwei Perioden, eine erste Periode mit verminderter Lebertätigkeit und eine zweite Periode mit stark erhöhter Lebertätigkeit. Die Lebertätigkeit wurde beurteilt nach der Gallenabsonderung. Eine weitere Variierung und Abstufung ist wegen der über längere Zeit sich hinstreckenden Wirkung der Galleninjektion auf die Leber nicht ganz leicht und nicht unbedingt nötig.

Die vorstehenden Protokolle ließen folgende Hauptsachen erkennen: Sowohl in Versuch 19 wie 20 ergeben beide Kontrollproben von Blut, ehe die Lebertätigkeit durch Galleninjektion gesteigert wird, einen genau übereinstimmenden Wert für den Trockengehalt. Vom Blutdruck ist offenbar der Trockengehalt des Blutes in der Normalperiode nicht abhängig, denn im Versuch 19 beträgt der Blutdruck 94, der Trockengehalt des Blutes 18,7 %. Im Versuch 20 ist aber der Blutdruck 175, wobei der Trockengehalt des Blutes nur 17,94 % beträgt.

Versuch 19.

Hund 4 kg. Morphium-Äthernarkose. Präparation wie beschrieben.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	10^{h} 34′ 40″ bis 10^{h} 34′ 42″	94	18,7	—
II	10^{h} 35′ 45″ bis 10^{h} 35′ 47″	96	18,7	1 ccm Galle injiziert 10^{h} 37′ 50″ bis 10^{h} 38′ 35″ 1 ccm Galle injiziert 10^{h} 39′ 40″ bis 10^{h} 39′ 50″
III	10^{h} 43′ 0″ bis 10^{h} 43′ 2″	100	18,5	Durch Galleninjektion ein vorübergehender Fall des Blutdrucks auf 42
IV	10^{h} 47′ 10″ bis 10^{h} 47′ 12″	90	18,8	10^{h} 32′ Sekretion beginnt
V	10^{h} 51′ 7″ bis 10^{h} 51′ 9″	84	18,5	Von 10^{h} 44′ bis 11^{h} 0′ = 1,6 ccm Galle
VI	11^{h} 2′ 45″ bis 11^{h} 2′ 47″	91	18,4	Von 11^{h} bis 11^{h} 20′ = 1,6 ccm Galle
VII	11^{h} 22′ 58″ bis 11^{h} 23′ 0″	86	18,7	—
VIII	11^{h} 48′ 56″ bis 11^{h} 48′ 58″	50	19,0	—
IX	12^{h} 2′ 7″ bis 12^{h} 2′ 9″	28	19,5	Gesamte Gallenmenge bis 12^{h} 1′ = 5.6 ccm

Sehr bemerkenswert ist nun der weitere Verlauf der Verhältnisse, der in beiden Versuchen ziemlich übereinstimmend ist. Der Blutdruck sinkt in beiden Versuchen allmählich herab. Im Versuch 19 bis auf 28 mm Quecksilber, im Versuch 20 bis auf 85 mm Quecksilber. Der Fall rührt wohl in erster Linie her von der Einwirkung der Galle. Nur nebenher von der Andauer des Versuches in Narkose. Im scharfen Kontrast zu diesem Verhalten des Blutdrucks steht dasjenige des Trockengehaltes. Derselbe nimmt allmählich in beiden Versuchen zu. Bemerkenswerterweise am meisten gerade im Versuch 19, wo der Blutdruck am tiefsten gesunken ist, denn dort erreicht der Trockengehalt des Blutes schließlich den Wert 19,5 gegenüber 18,7 % der Normalperiode. Wenn man

Versuch 20.

Hund, $4^1/_2$ kg. Morphium-Äthernarkose. Präparation dieselbe.

Nr.	Zeit	Druck	Feste Substanz %	Bemerkungen
I	$3^h\,22'\,22''$ bis $3^h\,22'\,24''$	172	17,98	2 ccm Galle injiziert $2^h\,32'\,30''$ bis $2^h\,32'\,45''$ Fall auf 130
II	$3^h\,28'\,35''$ bis $3^h\,28'\,37''$	175	17,90	2 ccm Galle injiziert $3^h\,36'\,50''$ bis $3^h\,36'\,56''$
III	$3^h\,34'\,55''$ bis $3^h\,34'\,57''$	162	18,30	Blutdruckfall auf 94
IV	$3^h\,41'\,10''$ bis $3^h\,41'\,12''$	142	18,25	—
V	$3^h\,54'\,56''$ bis $3^h\,54'\,58''$	128	18,18	$2^1/_2$ ccm Galle injiziert $3^h\,58'\,35''$ bis $3^h\,58'\,58''$ Gallenfluß wird stärker
VI	$4^h\,4'\,56''$ bis $4^h\,4'\,58''$	120	18,31	Bis $4^h\,6'\,4'' = 0,75$ ccm Galle
VII	$4^h\,16'\,48''$ bis $4^h\,16'\,50''$	104	18,49	Bis $4^h\,18'\,0'' = 1,75$ ccm Galle
VIII	$4^h\,33'\,38''$ bis $4^h\,33'\,40''$	85	18,44	Bis $4^h\,32'\,30 = 2,12$ ccm Galle
IX	$4^h\,50'\,5''$ bis $4^h\,50'\,7''$	78	18,27	Bis $4^h\,48'\,50 = 2,46$ ccm Galle

bedenkt, daß an und für sich während des Versuches der Trockengehalt sich mindern würde, so bedeutet diese Vermehrung und die im Versuch 20 viel mehr als in den nackten Zahlen liegt. Es ist klar, daß hier wiederum die von mir mehrfach betonte Tatsache, daß Blutdrucksenkung und Blutverdünnung nicht notwendig zusammengehen, sehr schön hervortritt. Diese beiden Versuche sind demnach neue Argumente gegen die Lehre von der rein mechanischen Rückfiltration.

Die Zunahme des Trockengehaltes des Blutes kann auf zwei Ursachen beruhen. Sie kann beruhen auf der Erweckung einer intensiveren Lebertätigkeit durch die Galleninjektion. Dieselbe tut sich in diesen Versuchen kund durch die gesteigerte Gallenbildung. Die intravenöse Injektion von Galle zeigt aber noch durch ein weiteres Symptom die Erweckung von Lebertätigkeit. Denn Asher hat früher gezeigt, und

Bainbridge hat dies unter Starlings Leitung bestätigt, daß Galleninjektion Bildung vermehrter Lymphe in der Leber verursacht. Nun sind spezifische Organtätigkeit und vermehrte Lymphbildung genau diejenigen Vorgänge, von denen Barcroft und Asher nachgewiesen haben, daß sie in der Speicheldrüse zur Eindickung des Blutes führen. Es ist daher nicht unbegründet, den Schluß zu ziehen, daß die Eindickung des Blutes in meinen Versuchen beruhte auf gesteigerter Lebertätigkeit bei gleichzeitiger Blutdrucksenkung.

Die Ursache der Bluteindickung könnte aber auch eine andere sein, sie könnte darauf beruhen, daß die im Blute kreisenden Gallensäuren die Permeabilität der Capillarendothelien erhöhen, so daß mehr Flüssigkeit als sonst hindurchtrete. Diejenigen, die großes Gewicht auf das lipoidlösende Vermögen der Galle legen, werden nicht ohne weiteres diese Möglichkeit außer Auge lassen. Dafür spricht auch, daß kein Parallelismus vorliegt zwischen der Größe der Gallenabsonderung und der Zunahme des Trockengehalts, wenigstens was die zeitlichen Verhältnisse betrifft. Gegen die Annahme, daß die Bluteindickung beruhe auf einer Änderung der Permeabilität der Gefäße, spricht die geringe Menge von Galle, die ich injizierte. Ferner spricht wenigstens gegen die Annahme einer allgemeinen Erhöhung der Gefäßpermeabilität die Tatsache, daß Bainbridge zeigen konnte, daß die Lymphsteigerung nach Injektion von Galle ausbleibt, wenn man die Leberlymphgefäße an der Porta abbindet. Daraus folgt, daß jedenfalls außerhalb der Leber eine durch vermehrte Lymphbildung erkennbare Permeabilitätssteigerung der Capillaren nicht stattfindet. Diese Gründe sprechen für die Annahme, daß die Zunahme des Trockengehalts nach Galleninjektion unter den Bedingungen meiner Versuchsordnung zustande kommt infolge der Vorgänge, welche die vermehrte Tätigkeit in der Leber begleiten. Ich bin der Meinung, daß diese Veränderung der Blutzusammensetzung infolge isolierter Tätigkeit eines einzigen Organes in meinen Versuchen zum Ausdruck kommen, weil durch die oben beschriebene Versuchsanordnung erreicht wurde, daß ein weit überwiegenderer Teil des Gesamtblutes als sonst fortwährend die Leber durchströmt hatte.

Völlig ausschließen läßt sich natürlich eine Permeabilitätsänderung infolge der Galleninjektion nicht. Ob man sich aber entscheidet für die Annahme, daß gesteigerte Organtätigkeit oder vermehrte Gefäßpermeabilität den Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen verursacht habe, so beibt doch eine sehr wichtige, aus meinen Versuchen sich wiederholt ergebende Tatsache. Es gelingt nicht, durch einfache mechanische Druckschwankungen innerhalb der physiologischen Grenzen den Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Geweben zu beeinflussen, wohl aber durch Mittel, die entweder durch die Stoffwechselvorgänge bei Organtätigkeit oder durch direkte Permeabilitätsbeeinflussung wirken.

Resultate.

In der vorausgehenden Arbeit wurden in jedem einzelnen Abschnitt die Ergebnisse nach verschiedenen Richtungen hin beleuchtet. Es bleibt daher hier nur übrig, zum Schluß noch einmal in aller Kürze die wichtigsten Tatsachen zusammenzufassen.

I.

Mechanische Blutdrucksteigerung infolge von Reizung des Nervus splanchnicus führt zu keiner Zunahme des Trockengehaltes weder im Blut aus einer Vene des Pfortadersystems noch aus einer Arterie.

II.

Infolge von Adrenalininjektion kommt es durchaus nicht in allen Fällen, trotz hoher Blutdrucksteigerung, zu einer Zunahme des Trockengehaltes des Blutes. Sicher gelangt die Eindickung nur zur Beobachtung, wenn man mehrere Minuten, mindestens $3^1/_2$ bis 4, nach der Adrenalininjektion wartet. Die Langsamkeit der Bluteindickung nach Adrenalininjektion steht im Gegensatz zu der großen Geschwindigkeit, mit welcher bei Organtätigkeit die Zunahme des Trockengehaltes im Blute eintritt. Die Bluteindickung nach Adrenalininjektion wurde zurückgeführt auf die besonderen Verhältnisse, welche die Adrenalininjektion begleiten und nicht auf die Blutdrucksteigerung.

III.

Bei Blutentzug tritt in sehr wenigen Sekunden eine merkliche Verdünnung des Blutes ein. Der Flüssigkeitsaustausch kann also in sehr kurzer Zeit bewerkstelligt werden. Auch nach Adrenalininjektion tritt nach Blutentzug sehr rasch Blutverdünnung ein, was dagegen spricht, daß die von einigen Autoren angenommene verminderte Permeabilität der Capillaren hinreichend groß sei, um die verzögerten Beeinflussungen des Flüssigkeitsaustausches zwischen Blut und Gewebe nach Adrenalininjektion zu erklären.

IV.

Blutdrucksenkung und Verdünnung des Blutes gehen durchaus nicht immer Hand in Hand, was dagegen spricht, daß notwendigerweise die Blutdrucksenkung ein Mittel sei, um Flüssigkeitseintritt aus den Geweben in die Blutbahn zu bewirken.

V.

Bei Asphyxie kommt es nicht zu einer Zunnahme des Trockengehaltes des Blutes. Da durch Asphyxie der Blutdruck wesentlich gesteigert wurde, ist hierdurch ein neues Argument gewonnen gegen die Annahme, daß innerhalb der physiologischen Grenzen Blutdruckschwankung notwendigerweise Filtration hervorrufen muß. Zweitens wird durch diese Tatsache bewiesen, daß Kohlensäure entgegen der Annahme mancher Autoren die Permeabilität der Gefäße nicht merklich beeinflußt. Die Frage nach der etwaigen Beeinflussung der Permeabilität der Capillaren muß auf Grund dieses Resultats gerichtet werden auf die Untersuchung einzelner für das betreffende Gewebe spezifischen Produkte.

VI.

Nach intravenöser Injektion von wenigen Kubikzentimetern Galle beim Hund kommt es bei stark gesteigerter Gallenabsonderung zu einer wesentlichen Zunahme des Trockengehaltes des Blutes. Dabei sinkt stetig der Blutdruck, wodurch ein neuer Beweis gegen den notwendigen Zusammenhang von Blut-

drucksenkung und Blutverdünnung gewonnen ist. Die Zunahme des Trockengehaltes im Blute unter den vorliegenden Versuchsbedingungen wird zurückgeführt auf die Folge der Stoffwechselvorgänge bei erhöhter Organtätigkeit, analog wie bei der Speicheldrüse. Doch mußte nebenher auch an die Möglichkeit der Permeabilitätsbeeinflussung der Capillarendothelien infolge der Einwirkung der im Blute kreisenden Gallensäuren gedacht werden.

Mineralstoffzusammensetzung der Knochen bei Osteomalacie.

Von

Caesare Cappezzuoli.

(Aus der Klinik für innere Medizin in Florenz.)

(Eingegangen am 5. Februar 1909.)

Es ist noch nicht genau festgestellt worden, wie die physiologische Verknöcherung der Knorpel geschieht. Wir finden zahlreiche histologische Arbeiten hierüber, jedoch ist über den Chemismus des Vorganges wenig bekannt. Grandis und Copella untersuchten die Gliederknorpel in verschiedenen Verknöcherungsstadien und fanden, daß beim Verknöcherungsprozeß eine Vermehrung an Ca und P erfolgt, während der Magnesiumgehalt stark abnimmt, also der umgekehrte Vorgang wie bei der Osteomalacie eintritt.

Es wurden bezüglich der letzteren mehrere Hypothesen mit mehr und weniger Glück aufgestellt, hinsichtlich deren ich auf die Literatur[1]) verweise.

Die folgenden Versuche sind an einem Ostemalacie-Fall ausgeführt, über dessen klinischen Verlauf Levi und Stefanelli[2]) berichtet haben.

Ich wollte intra vitam Untersuchungen über den Mineralstoffwechsel vornehmen, jedoch ist dies unmöglich gewesen, weil die Patientin Harn und Kot unwillkürlich entleerte.

Bei der Obduktion waren die Knochen sehr verändert, alle mehr oder weniger erweicht, besonders die flachen; die Dicke der langen war stark reduziert; die Oberfläche zeigte zahlreiche größere Öffnungen. Der Schädel war so weich, daß man ihn mit dem Messer leicht durchschneiden konnte. Er

[1]) Albu-Neuberg, Physiologie und Pathologie des Mineralstoffwechsels. Berlin 1906.

[2]) Levy und Stefanelli, Rev. critica di Clinica medica 1908, Nr. 21 u. 27.

war ein wenig in den Frontalteilen verdickt. — Bedeutende Kyphoskoliosis am oberen Teil der Wirbelsäule.

Für die Analysen sammelte ich einige flache Knochen (Hinterhaupt-, Stirn- und Brustbein-, Beckenknochen) sowie lange (Schulter-, Hüften-, Schienbein- und Rippenknochen) und löste deren Periost sorgfältig ab, zerstückelte sie und entfernte das Fett durch Verseifung. Nach dem Trocknen bei 100° bis zur Gewichtskonstanz wurde die Substanz verascht. Ein bestimmter Teil der Asche wurde in destilliertem Wasser gelöst, wobei nicht alles in Lösung ging, der andere Teil mit Essigsäure und stark verdünnter Salzsäure vollständig in Lösung gebracht. — Die Analysen habe ich nach den gebräuchlichen Methoden doppelt ausgeführt, und fand in 100 Teilen der Trockensubstanz:

	Lange Knochen Asche = 42,46 %	Flache Knochen Asche = 39,98 %
Asche, wasserlöslich	41,04 %	49,09 %
Asche, unlöslich in H_2O	58,96 %	50,91 %
In 100 Teilen der Asche:		
	CaO = 36,05 %	CaO = 32,75 %
	MgO = 1,12 %	MgO = 1,49 %
	P_2O_5 = 31,12 %	P_2O_5 = 29,15 %
In 100 Teilen der wasserfreien Substanz:		
	CaO = 14,83 %	CaO = 13,11 %
	MgO = 0,46 %	MgO = 0,60 %
	P_2O_5 = 12,81 %	P_2O_5 = 11,66 %
	Ca:Mg = 100:2,66	Ca:Mg = 100:3,85

Hieraus geht folgendes hervor:

1. Die prozentuale Menge der Asche und der Trockensubstanz ist vermindert.

2. Alle mineralischen Substanzen im Knochengewebe sind verringert.

3. Die Verminderung an Ca ist stärker als an Mg, und das Verhältnis beider übersteigt das normale mit den Werten 2,66 % und 3,83 % statt 1,14 %.

4. Die chemischen Veränderungen sind in den flachen Knochen stärker als in den langen.

Das Verhalten der Leber gegen körperfremde Eiweißstoffe.

Von

Felix Reach.

(Aus dem physiologischen Institut der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 15. Februar 1909.)

Die Spaltung der Eiweißstoffe in den Organen ist in den letzten Jahren vielfach Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen gewesen. Man hat fast stets Organbrei oder Organextrakt in vitro zu solchen Untersuchungen verwendet. Da zwischen dem Vorgange bei derartigen Reagensglasversuchen und dem zu erforschenden im lebenden Tierkörper eine große Differenz besteht, so sagen solche Experimente wenig über den Abbau der Eiweißkörper im lebenden Organismus aus. Wir erfahren aus diesen Versuchen nicht, welche Rolle die hydrolytische Spaltung neben dem oxydativen Abbau spielt. Es ergibt sich daher von selbst die Forderung, diese Umsetzungen auch in Experimenten zu erforschen, bei welchen die Verhältnisse der im lebenden Tierkörper ähnlichere sind, und es wäre der erste Schritt auf diesem Wege an überlebenden Organen bei erhalten gebliebener Zirkulation zu experimentieren. Indes ist dieser Weg noch wenig beschritten worden. E. Freund[1]) (und Töpfer) haben eine Anzahl hierhergehöriger Versuche angestellt. In einem Teile dieser Untersuchungen wurde die Leber mit defibriniertem Blute durchströmt, und zum Beginne wie am Schlusse die N-Verteilung im Blute untersucht. Freund fand nun, daß die Leber aus den Arterien entnommenes Blut

---

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 1.

fast gar nicht hinsichtlich seiner Eiweißkörper veränderte; auch zugesetztes art- oder körperfremdes Eiweiß wurde nicht verändert. Nur wenn zu der Durchströmung Pfortaderblut verwendet wurde, zeigten sich die Zerfallsprodukte nach der Durchströmung wesentlich vermehrt, und zwar war dies namentlich dann der Fall, wenn das Pfortaderblut einem in Verdauung befindlichen Tiere entnommen war. Freund folgert aus diesen und anderen Versuchen, daß die Leber nur einen bestimmten Eiweißkörper zu zersetzen imstande sei, der bei der Resorption in der Darmwand entstehen sollte. Auf die weiteren Folgerungen Freunds und ihre Begründung soll hier nicht eingegangen werden.

Schlüsse, die sich auf die N-Verteilung in der Durchströmungsflüssigkeit begründen, sind jedenfalls mit einer gewissen Unsicherheit behaftet, weil wir den N-Austausch zwischen Organ und Durchströmungsflüssigkeit weder ausschließen noch abschätzen können. Dem Vergleiche der N-Verteilung in der Flüssigkeit am Ende und zu Beginn der Durchströmung liegt die Voraussetzung zugrunde, daß kein N vom Blute in das Organ übergetreten sei und umgekehrt, und daß man es beide male mit denselben N-haltigen Körpern zu tun habe, die nur infolge ihrer Passage durch die Gefäße und Saftkanäle des Organes verändert worden sind. Für diese Voraussetzung fehlt es jedoch an einer tatsächlichen Grundlage.

Es spielt hier noch ein zweites Problem herein, nämlich jenes, das durch die von Voit aufgestellten Begriffe „zirkulierendes Eiweiß" und „Organeiweiß" charakterisiert wird. Wir wissen noch immer nicht, ob die Eiweißzersetzungen im Innern des Körpers, hauptsächlich an der einen oder der anderen Eiweißart vor sich gehen, und wir wissen auch nicht, in welchem Umfange etwa die eine Art des Eiweißes sich in die andere Art verwandeln kann. Der Umstand, daß die autolytischen Fermente intracellulär vorkommen, deutet jedoch darauf hin, daß Eiweiß, das zersetzt werden soll, erst in die Körperzellen aufgenommen werden muß.

Da also eine Unsicherheit dadurch entsteht, daß uns nicht bekannt ist, in welchem Umfange wir die N-haltigen Substanzen am Schlusse eines Durchströmungsversuches auf jene bei Beginn beziehen dürfen, erschien es zweckmäßig, derartige Ver-

suche unter Verwendung von gewissermaßen bezeichneten Eiweißmolekülen anzustellen Im folgenden soll über einige Leberdurchströmungen berichtet werden, in denen der Durchströmungsflüssigkeit Jodeiweiß zugesetzt war. Es bestand dabei die Absicht, einerseits die J-Verteilung an Stelle der N-verteilung als Maßstab der stattgefundenen Eiweißzersetzungen zu benützen, während andererseits die Verteilung des Jods auf Leber und Durchströmungsflüssigkeit einen Anhaltspunkt für etwaige Speicherung von Jodeiweiß geben konnte. An Stelle der N-Verteilung die J-Verteilung zu untersuchen, haben vor kurzem auch von Fürth und Friedmann[1]) unternommen bei Versuchen, die im übrigen ganz anderer Art sind als die hier berichteten, und deren Veröffentlichung erst vor kurzem erfolgte, als diese Versuche bereits im Gange waren.

Als Jodeiweiß wurden bei unseren Durchströmungen zwei käufliche Präparate verwendet, und zwar das „Jodeigon-Natrium" der chemischen Fabrik Helfenberg und eine „Jodalbumose" der Firma Boehringer in Mannheim.[2]) Beide Präparate enthielten eine große Menge locker gebundenen Jods und mußten daher erst gereinigt werden. Es geschah dies ähnlich wie in den Versuchen von Fürth und Schwarz[3]) durch wiederholte Fällung mit Essigsäure aus schwach alkalischer Lösung. Dieser Reinigungsprozeß wurde so lange fortgesetzt, bis die nach der Fällung übrig bleibende Flüssigkeit keine Jodreaktion mehr gab. Dabei nahm der Jodgehalt der Substanz wesentlich ab, so daß er beim Jodeigon-Natrium (wie auch v. Fürth und Schwarz mitteilen) von 11% auf ca. 2% sank. Überdies verminderte sich bei dieser Behandlung auch die Substanzmenge sehr wesentlich. Zum Schlusse dieses Reinigungsprozesses wurde die Flüssigkeit auf der Nutsche abgesaugt, und der Niederschlag im Vakuum getrocknet. Vor dem Versuch wurde der getrocknete Eiweißkörper in Wasser unter Zusatz jener sehr geringen Menge Alkali, die zur Neutralisation eben nötig war, gelöst. Diese Lösung wurde bei

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1908, Suppl. (Festschrift f. Schmiedeberg).

[2]) Beiden Firmen bin ich für die Überlassung von Substanz zu Dank verpflichtet.

[3]) Pflügers Archiv 124, 145.

Herstellung einer größeren Menge Ringerscher Flüssigkeit wie destilliertes Wasser (also unter Vernachlässigung der gelösten Substanz) verwendet, und diese Ringer-Lösung diente dann — in einem Teil der Versuche noch mit Blut gemengt — als Durchströmungsflüssigkeit. Bei der Reinigung zweier verschiedener Proben von Jodeigon-Natrium wurde nicht das gleiche Endprodukt erhalten. Aus der Lösung ließ sich nämlich das eine mal durch Drittelsättigung mit Ammoniumsulfat bereits alle jodhaltige Substanz ausfällen; dieses Präparat wird weiterhin als Jodeigon-Natrium I bezeichnet. Bei einem zweiten Präparat waren nach Drittelsättigung noch merkbare Mengen von Jod im Filtrat nachweisbar (Jodeigon-Natrium II). Halbsättigung mit Ammonsulfat genügte auch hier wie bei der Jodalbumose, um ein völlig jodfreies Filtrat zu erhalten.

Die Methode der Durchströmung schloß sich eng an die Angaben von Locke und Rosenheim[1]) an. Als Versuchstiere dienten Hunde und Katzen. In den Versuchen 6 und 7 waren die Tiere gefüttert, in den übrigen Versuchen hatten sie 2 bis 3 Tage vorher gehungert. Als Durchströmungsflüssigkeit diente meist die mit dem Jodeiweiß versetzte Ringersche Lösung. In den Versuchen 6 und 7 wurde diese Flüssigkeit noch mit Blut gemischt. Das eine mal wurde defibriniertes Blut genommen. Es fiel jedoch in diesem Versuche die Durchströmung sehr unvollkommen aus. Das nächste mal wurde in folgender Weise vorgegangen: Ein Hund wurde aus der Pfortader verblutet, und das Blut durch Zusatz von Hirudin (in Ringerscher Flüssigkeit gelöst) ungerinnbar gemacht. Dieses Blut wurde mit der jodeiweißhaltigen Ringerlösung gemischt, und die Leber eines zweiten Hundes damit durchströmt. Die Verwendung von Hirudin an Stelle des Defibrinierens scheint auch den Vorteil zu haben, daß es das Blut weniger eingreifend verändert. Wenigstens sprechen dafür einige Versuche von Pfaff und Vejnx-Tyrode[2]). Bei Durchströmung der überlebenden Niere konnten diese Autoren nur eine sehr geringe Menge von Harn erhalten, wenn sie defibriniertes Blut verwendeten. Hingegen war die Harnmenge

[1]) Journ. of Physiol. 36.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 29.

eine beträchtliche, wenn sie nicht defibriniertes aber durch Blutegelextrakt ungerinnbar gemachtes Blut verwendeten.

Am Schlusse der Versuche wurde in der Flüssigkeit die Gesamtmenge des vorhandenen Jods nach Veraschung bestimmt. Hierzu diente die colorimetrische Methode in jener Form, die im Berner pharmakologischen Laboratorium ausgearbeitet[1]) wurde. Es wurde ferner ein Teil der Durchströmungsflüssigkeit mit Ammonsulfat versetzt. Bei Verwendung von Eigon-Natrium I, bei dem, wie oben angeführt, schon bei Drittelsättigung alle jodhaltige Substanz in den Niederschlag ging, wurde die Drittelsättigung, die Halbsättigung und die Ganzsättigung vorgenommen; bei Verwendung der übrigen Präparate nur die Halb- und Ganzsättigung. Die Ausführung der Jodbestimmung in den ammonsulfatreichen Filtraten erwies sich als einigermaßen umständlich.

Die Leber wurde nach Beendigung der Durchströmung in folgender Weise behandelt. Nachdem sich möglichst viel Flüssigkeit entleert hatte, wurde durch gelinden Druck noch einige Flüssigkeit ausgepreßt, so daß die weitere Untersuchung an dem möglichst „ausgebluteten" Organ vorgenommen wurde. Es wurden nach Wägung des ganzen Organs ein oder zwei Stücke aus der Umgebung der Porta entnommen, gewogen und im ganzen verascht, oder die ganze Leber durch die Fleischhackmaschine geschickt und hierauf die Jodbestimmung an einem (oder 2) aliquoten Teilen vorgenommen. Der Rest der Leber wurde mit Ringerscher Lösung extrahiert; denn es lag im ursprünglichen Versuchsplan, auch hier die Jodverteilung zu untersuchen.

Es zeigte sich nun zunächst, daß die Leber mindestens in manchen Fällen offenbar Jod angehäuft hatte. In zweien der Versuche, nämlich in den Versuchen 1 und 4 enthielt die Leber sogar mehr Jod als die Durchströmungsflüssigkeit. Setzt man den Jodgehalt von 100 ccm Flüssigkeit = 100, so betragen die bezüglichen Verhältniszahlen für die Jodmenge in 100 g Leber in dem Versuche Nr. 1 = 139 und in dem Versuche 4 = 150. Auch in andern Versuchen ist der Gehalt der Leber an Jod ein recht beträchtlicher. Die Ver-

[1]) Anten, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 48.

hältniszahlen sind im Versuche 3 = 75, im Versuche 7 = 57, im Versuche 2 = 41. Auch in diesen Fällen muß man eine Aufspeicherung von Jod in den Leberzellen annehmen, da man sonst voraussetzen müßte, daß ca. 50% der ausgebluteten Leber noch aus Durchströmungsflüssigkeit bestanden habe. In zwei weiteren Versuchen war der Jodgehalt der Leber ein geringer. In Versuch 6 war die Durchströmung überhaupt, wie schon erwähnt, eine sehr unvollkommene, und es ist daher kein Wunder, daß die Leber, die hier im ganzen zerkleinert und untersucht wurde, nur Spuren von Jod enthielt. In dem Versuche 5 beträgt die, wie oben, berechnete Verhältniszahl 17. In diesem Falle zeigte sich die Leber bei Eröffnung der Bauchhöhle auffallend anämisch, so daß man annehmen kann, daß es sich hier wohl um kein normales Organ gehandelt hat. Daß auch in den übrigen Fällen der Jodgehalt der Leber schwankt, beruht zum Teile wohl ohne Zweifel darauf, daß die Durchströmung verschieden intensiv war. Zum Teil dürfte der Grund wohl in der verschieden starken Funktion der Leber liegen. Bei Versuchen an überlebenden Organen darf man keine allzu große Regelmäßigkeit erwarten; denn überlebende Organe sind stets absterbende, und es liegt nicht in unserer Hand, die Geschwindigkeit, mit der die Organzellen absterben, gleichmäßig zu gestalten. Es scheint jedoch gerade der Umstand, daß auch nach gutgelungener Durchströmung ein so geringer relativer Jodgehalt wie in dem Versuche 5 gefunden wurde, darauf hinzudeuten, daß die Jodspeicherung auch in jenen Fällen, wo wir Verhältniszahlen wie 57 oder 41 hatten, eine recht bedeutende ist. Denn wenn keine Jodspeicherung stattfände, so wäre der Jodgehalt der Leber am Ende der Durchströmung ein Maß für den Gehalt des durchströmten Organs an Durchströmungsflüssigkeit. Wenn das gut durchströmte Organ nach dem Versuche 5 höchstens 17% Flüssigkeit enthielt, so wird man um so mehr annehmen dürfen, daß auch beispielsweise im Versuche 2 wesentlich weniger als 41% des Gewichtes aus Durchströmungsflüssigkeit bestand, daß also eine erhebliche Speicherung von jodhaltigem Material stattgefunden hat. Wenn man an die Durchströmung mit der jodeiweißhaltigen Flüssigkeit noch eine Ausspülung mit einer jodfreien anschlösse, so würden solche Versuche noch Näheres darüber aussagen, wie

fest das Jodeiweiß in der Leberzelle gebunden ist. Versuche solcher Art wurden bisher noch nicht angestellt. Es zeigt jedoch ein Teil der hier berichteten Versuche auch ohne dies unzweifelhaft, daß die Leber die zugeführte Substanz aufgespeichert hat. Daß diese aufgespeicherte Substanz noch die Form des Jodeiweißes hatte, dafür sprechen zweierlei Befunde. Erstens der Umstand, daß sich nur sehr wenig Jod aus der Leber extrahieren ließ, und zweitens, daß die Leber das Jodeiweiß überhaupt nur in sehr geringem Maße zersetzte.

Mit diesem Befunde stimmt der von Seitz[1]) erhobene in gewisser Beziehung überein. Letzterer fand nämlich bei Versuchen an Vögeln, daß die Leber bei länger dauernder Eiweißmast als Vorratsorgan des Organismus für Eiweiß funktioniert.

Die Untersuchung der Durchströmungsflüssigkeit zeigte, daß die Proteolyse eine sehr geringe war. Bei Ganzsättigung war in keinem Falle Jod im Filtrate. Es fand sich also in der Durchströmungsflüssigkeit gar kein über die Stufe der Albumosen abgebautes Jodeiweiß. Auch bis zu dieser Stufe ist die Zersetzung dem Umfange nach eine geringe. Nur in den Versuchen 1 und 5 ist eine etwas größere Menge (ungefähr 44 %) so weit abgebaut worden, daß sie bei Drittelsättigung nicht ausfiel. Doch enthielt auch in diesen Fällen das Filtrat nach Halbsättigung kein Jod mehr. Auch die Verwendung von verdünntem Pfortaderblut als Durchströmungsflüssigkeit änderte an der Geringfügigkeit der Zersetzung nichts. Ein Zusammenhang zwischen der Aufspeicherung und der Spaltung des zugeführten Jodeiweißes war nicht ersichtlich.

Die Untersuchung der Durchströmungsflüssigkeit auf die J-Verteilung bestätigt also einen Teil dessen, was Freund durch die Untersuchung der N-Verteilung gefunden hat, nämlich daß die überlebende Leber körperfremdes Eiweiß in größerem Umfange nicht zersetzt.

Fassen wir also die Resultate dieser Untersuchungen kurz zusammen, so können wir folgendes sagen: Über das Verhalten von körperfremdem Eiweiß in der Leber haben Durchströmungsversuche mit Jodeiweiß gezeigt, daß die Leber das körperfremde Eiweiß aufspeicherte.

---

[1]) Pflügers Archiv 111, 1906.

Eine Spaltung des Eiweißes war nur in sehr geringem Umfange und nur in sehr geringem Grade nachweisbar.

Versuchsprotokolle.

I. Katze, 1,5 kg von Gewicht, Leber 56,6 g. 2 Stunden durchströmt mit Ringer + Jodeigon-Natrium Nr. 1 (bei Drittelsättigung fällbar). 100 ccm Flüssigkeit enthalten 4,8 mg Jod. Filtrat nach Drittelsättigung entsprechend derselben Menge ursprünglicher Flüssigkeit 2,1 mg Jod. Filtrat nach Halbsättigung jodfrei. Jodgehalt der Leber auf 100 g umgerechnet 6,7 mg. Hiervon gingen in Lösung 2,8 mg.

II. Hund, 9,5 kg. Leber 288 g. 2 Stunden durchströmt mit Ringer + Jodalbumose. Auf 100 ccm Flüssigkeit 16 mg Jod. Filtrat nach Halbsättigung 0,6 mg. Nach Ganzsättigung jodfrei. Auf 100 g Leber kommen 6,5 mg Jod; hiervon gehen bei Extraktion mit Ringerscher Flüssigkeit auf dem Wasserbade in Lösung 1,7 mg.

III. Hund, 6,4 kg. Leber 238 g. 2 Stunden durchströmt mit Ringer + Jodalbumose. Auf 100 ccm Flüssigkeit 3,6 mg Jod. Im Filtrat nach Halbsättigung kein Jod. Auf 100 g Leber 2,7 mg Jod, wovon bei Extraktion in der Wärme wie vorhin nur Spuren in Lösung gehen.

IV. Hund, 13,3 kg. Leber 516 g. 2 Stunden durchblutet mit Jodeigon-Natrium Nr. 1. Auf 100 ccm Flüssigkeit 1 mg Jod. Nach Drittelsättigung nur Spuren, nach Halbsättigung gar kein Jod im Filtrat. Auf 100 g Leber 15 mg Jod, wovon geringe Mengen in Lösung gehen.

V. Katze, 2,8 kg. Die Leber zeigt sich bei Eröffnung des Leibes auffallend blaß, sie wiegt 72 g. $1^1/_2$ Stunden durchströmt mit Jodeigonnatrium Nr. 1. Auf 100 ccm Flüssigkeit 7,4 mg Jod, wovon bei Drittelsättigung 3,0 g ausgefällt werden. Filtrat nach Halbsättigung jodfrei. Die Leber enthielt auf 100 g 1,2 mg Jod. Die in Lösung gegangene Menge wurde nicht bestimmt, weil bei dem geringen Gehalt der Leber an Jod und ihrem geringen Gewicht die Substanzmenge, die nach einer Doppelbestimmung des Gesamtjodes zurückblieb, jedenfalls nur sehr geringe Mengen Jod enthalten konnte.

VI. Hund, 7 kg. Leber 1700 g. Zur Durchströmung wurde defibriniertes Blut desselben Tieres mit einer Lösung von Jodeigon-Natrium Nr. 2 (Jod erst bei Halbsättigung vollständig ausfällbar) verdünnt. Die Durchströmung war sehr unvollkommen. In der Leber waren Spuren von Jod nachweisbar. Trotzdem zeigte das Filtrat nach Halbsättigung der Flüssigkeit ebenfalls noch Spuren von Jod.

VII. Einem Hunde von 5 kg wurden 100 ccm Pfortaderblut entnommen und durch Zusatz von etwas Hirudin flüssig erhalten. Sie wurden mit 300 ccm Jodeigon-Natrium Nr. 2 gemischt und dienten als Durchströmungsflüssigkeit. Durchströmt wurde die 292 g schwere Leber eines zweiten Hundes von 6,8 kg Gewicht. Die Durchströmungsflüssigkeit enthielt auf 100 ccm 3 mg Jod, wovon nur Spuren in das Filtrat nach Halbsättigung übergingen. Von zwei untersuchten Leberstücken enthielt das eine 1,5, das andere 1,8 mg Jod.

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

Zweite Mitteilung.

Über die ungesättigten Phosphatide der Niere.

Von

Alexander Nogueira, Montevideo.

(Aus dem Laboratorium der L. Spieglerstiftung in Wien.)

(Eingegangen am 15. Februar 1909.)

Im Rahmen der Untersuchungen über Lipoide, die in diesem Institut eben durchgeführt werden, haben wir es unternommen, die Phosphatide der Niere zu bearbeiten, da uns dieses nicht nur vom physiologischen, sondern auch vom klinischen Standpunkte wichtig erschien. Die bisherigen Untersuchungen über Phosphatide, welche im hiesigen Institute durchgeführt wurden, haben gezeigt, daß der Lipoidgehalt und noch spezieller der Phosphatidgehalt der verschiedenen Organe desselben Tieres sehr verschieden ist, daß die Phosphatide der verschiedenen Organe untereinander sehr verschieden sind, daß aber auch verschiedene Tierarten in gleichen Organen chemisch verschiedene Phosphatide enthalten, so daß das Studium dieser Substanzen sich keineswegs darauf beschränken darf, wie es von mancher Seite geschehen ist, sich mit der bloßen Konstatierung oder quantitativen Bestimmung des Phosphors in ätherischen Extrakten der Organe zu begnügen, sondern es ist vielmehr notwendig, wenn wir Fortschritte in der Kenntnis dieser Substanzen machen wollen und wenn wir ferner die Rolle dieser Substanzen in der Physiologie und Pathologie verstehen wollen,

diese Substanzen zu isolieren und die einzelnen chemischen Individuen einer weiteren chemischen Untersuchung und Spaltung zu unterziehen.

Bei Untersuchungen dieser Art haben wir bemerkt, daß kein einziges Organ von denen, die wir bis jetzt in Betracht gezogen haben, nur ein Phosphatid enthält, sondern es waren überall mehrere Phosphatide von verschiedenen Typen zu finden. Merkwürdigerweise fehlen aber in den bisher untersuchten Organen die Phosphatide des Lecithintypus, das sind Phosphatide, welche je ein Stickstoffatom in Form von Cholin, ein Phosphoratom in Form von Glycerinphosphorsäure, sowie eine gesättigte und eine ungesättigte Fettsäure enthalten.

Über die Phosphatide der Niere sind bis jetzt nur äußerst spärliche Untersuchungen vorgenommen worden und in einer Art (Phosphorbestimmung des Ätherextraktes), die wir schon einleitend kritisiert haben. Die Isolierung chemischer Individuen wurde nicht einmal versucht, und dadurch ist jeder Versuch, sich mit den Phosphatiden der Niere zu beschäftigen, von großer physiologischer Tragweite, wie aus der leider zu wenig beachteten Untersuchung von Leo Liebermann[1]) zu entnehmen ist. Dieser Forscher hat sich zwar nicht mit der Individualität der Phosphatide beschäftigt, aber er hat die physiologische Rolle dieser Substanzen durch seine einfachen Versuche dem Verständnis nähergerückt. Der in Pepsinsalzsäure unverdauliche Anteil der Nieren sowie das Lecithalbumin aus der Magenschleimhaut geben, mit einer alkalischen Lösung von harnsaurem Natron übergossen, ein intensiv saures Filtrat, ebenso gibt Lecithalbumin mit dem stark alkalisch reagierenden Dinatriumphosphat ein saures Filtrat, während die Rückstände am Filter stark alkalisch reagieren. Liebermann will nach dieser Beobachtung aus der Anwesenheit von Lecithalbumin im Nierengewebe die Abscheidung des normalen sauren Harns aus alkalischer Blutflüssigkeit erklären; ja, er möchte noch weiter gehen und die Entstehung des harnsauren Infarktes, des Nierensandes, dem Gehalte der Niere an Lecithalbumin zuschreiben, da gewisse Individuen dazu stärker dis-

---

[1]) L. Liebermann, Pflügers Archiv 50, 55.

ponieren als andere, was vielleicht mit einem höheren Gehalt der Zellen an Lecithalbumin, welche der Harn in den Nieren passieren muß, zusammenhängt; ja der alkalische Harn der Pflanzenfresser wäre nach dieser Auffassung darum von solcher Beschaffenheit, weil das Lecithalbumin der harnfiltrierenden Schichten nicht ausreicht, die große Menge von Alkali zu binden, welche bei vegetabilischer Kost im Organismus entsteht. Wie sich die Sache auch immer verhalten mag, so scheint uns diese Auffassung erwähnenswert, als erster Versuch die physiologische Rolle der Nierenphosphatide festzulegen.

Die wenigen anderen Untersuchungen über die Phosphatide beziehen sich durchaus auf pathologische Nieren des Menschen, was aus dem Grunde sehr mißlich ist, weil über den physiologischen Gehalt und die Arten der physiologisch vorkommenden Phosphatide der Menschenniere noch keinerlei, auch nur annähernd ausreichende Untersuchungen vorliegen.

Delamare und Lecene[1]) fanden, daß die Hypernephrome reich an „Lecithin" sind. Gatti[2]) gibt an, daß Prüfungen in Grawitz-Tumoren nach Hoppe-Seylers Bestimmungsmethode 3,74 % Lecithin gaben. Da die Nebennieren sehr reich an Phosphatiden sind, entspricht dieses den histologischen Untersuchungen, welche den Ursprung dieser Tumoren aus dem Nebennierengewebe feststellen, so daß diese Arbeit viel weniger auf die Niere als auf die Nebenniere sich bezieht. Rübow[3]) hat den Lecithingehalt der Niere unter normalen Verhältnissen und bei der Fettdegeneration untersucht. Dieser Lecithingehalt wurde durch Phosphorbestimmung des Ätherextraktes festgestellt. Die Untersuchung der Nieren ein und desselben Individuums ergab, daß beide Organe dieselbe Menge eines ätherlöslichen Extraktes enthalten. Die Versuche, durch toxische Einwirkungen eine fettige Degeneration der Niere hervorzurufen, sind mißlungen. Edw. Dunham[4]) hat aus Rinderniere die Carnaubasäure $C_{24}H_{48}O_2$ dargestellt, welche in lipoider Substanz enthalten war und durch Verseifung dieser gewonnen wurde.

---

[1]) Delamare et Lecene, Compt. rend. **62**, **442**.

[2]) Gatti, Virchows Archiv **150**, 417—425.

[3]) Rübow, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **1905**.

[4]) Edw. Dunham, Acid from beef kidney. Journ. of Biolog. Chem. 1908.

Die Muttersubstanz der Carnaubasäure wurde nicht rein dargestellt, sie wird als „cerebronartig" angegeben. Klemperer[1]) fand bei der Untersuchung einer normalen Niere 1,38 % Ätherextrakt, wovon 0,3 % Cholesterin und 0,6 % Lecithin waren. Somit fand sich 0,9 % lipoider Substanzen und noch nicht ½ % reines Fett. In pathologischen Fällen fanden sich sehr erhebliche Lipoidmengen; zweifellos ist ein Lipoidgehalt von 3,22 %, wie ihn die „Fett"niere bei Morbus Brightii zeigte, ganz außerhalb der Norm. Klemperer glaubt, daß bei der Armut des Blutserums an lipoiden Substanzen, diese Lipoide aus der zugrunde gegangenen Zelle der Niere entstanden sein müssen. Somit würde höherer Gehalt an lipoider Substanz (früher als Fettdegeneration bezeichnet) in Wirklichkeit ein Beweis für Nekrose sein. Das in der Niere sichtbare Fett ist zum größten Teil kein wirkliches Fett, sondern die sichtbar gewordene Lipoidsubstanz der Zelle; es handelt sich nicht um eine fettige Metamorphose, sondern um eine fettige „Phanerose".

Das Studium der nicht eiweißartigen Zellbestandteile der Niere wird entschieden dazu beitragen, das physiologische Erkennen und Verstehen der biologischen Prozesse der Niere zu fördern, aber dieses Erkennen muß basiert werden auf dem Studium der physiologisch vorkommenden Substanzen bei verschiedenen Tierklassen und beim Menschen sowie auf der Veränderung dieser Substanzen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen.

Die unzureichenden Kenntnisse der chemischen Anatomie dieses Gewebes kann nur zu kurzlebigen Hypothesen, aber nicht zu völligem Erfassen der physiologischen und pathologischen Nierenfunktion führen. Freilich ist diese Art der Forschung ungleich schwieriger, aber nur sie kann unseres Erachtens zu einer völligen Klärung führen, während rein analytische Daten über den Phosphorgehalt des Ätherextraktes uns keinerlei Einblick in das Wesen der Substanzen und der ablaufenden Prozesse gestatten.

Es ist uns gelungen, nach einem im experimentellen Teil detailliert beschriebenen Verfahren aus der Rinderniere drei

[1]) G. Kemperer, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. 24, 320.

ungesättigte Phosphatide darzustellen. Eins von diesen Phosphatiden hatte die Eigenschaften des Kephalins, ohne daß wir aber in der Lage wären, bei der geringen Menge, die wir erhielten, dieses Präparat der nach unseren Erfahrungen sehr umständlichen Reinigung zu unterziehen, so daß wir nur feststellen konnten, daß diese Substanz aus ihrer ätherischen Lösung durch absoluten Alkohol fällbar und ungemein sauerstoffavid ist. Die Erfahrungen, die im hiesigen Laboratorium mit Kephalin aus Gehirn gemacht wurden, zeigen, daß diese Substanz nur sehr schwierig von anderen sie begleitenden Körpern zu trennen ist und daß man mit kleinen Mengen Trennungen dieser Art überhaupt nicht durchführen kann. Die trockene Substanz war von dunkelgelber Farbe, harzig; bräunte sich stark und rasch im Thermostaten (bei 100°); fängt um 125° an zu schmelzen und zersetzt sich um 135°; die Jodzahl war 70,38 %. Sie ist leicht löslich in Äther, löslich in Chloroform, sehr wenig löslich in siedendem Alkohol, unlöslich in Wasser und reinem Alkohol.

Aus der kephalinfreien Lösung wurde als Cadmiumverbindung eine Substanz gefällt, deren Analysen zu der Formel $C_{78}H_{133}N_3P_2O_{21}Cd_2Cl_6$ führt. Diese Substanz erweist sich also als ein ungesättigtes Triaminodiphosphatid, und die zugrunde liegende Verbindung ist $C_{78}H_{131}N_3P_2O_{21}$. Die Verbindung vermag 2 Moleküle Chlorcadmium zu addieren, ebenso 2 Moleküle Salzsäure, so daß sie als eine zweibasische Substanz aufzufassen ist. Die Jodzahl der Cadmiumverbindung ist 63,48; die Jodzahl des freien Phosphatides 82, was für eine sehr ungesättigte Verbindung spricht. Von den Stickstoffen scheinen zwei in Form von Cholin enthalten zu sein, wenigstens spricht hierfür der Ausfall der Bestimmung der Methylgruppen am Stickstoff, ebenso wie die Addition der zwei Salzsäuren und der zwei Chlorcadmiummoleküle. Über die Bindung des dritten N-Atoms kann nur eine Hydrolyse Aufschluß geben, zu der uns leider keine genügende Menge Substanz zur Verfügung steht.

Neben dieser Substanz beobachteten wir eine dritte, welche ein Diaminomonophosphatid ist und völlig differente Eigenschaften zeigt. Sie addiert keine Salzsäure wie das vorher beschriebene Triaminodiphosphatid, aber sie verbindet sich mit Cadmium. Die Analysen der Cadmiumverbindung führen zu

der Formel $C_{34}H_{74}N_2PO_{10}(CdCl_2)_2$. Sie ist weitaus weniger ungesättigt als die vorher beschriebene, da ihre Jodzahl nur 25,81 %, resp. die der cadmiumfreien Substanz 37,83 % ist. Die Bestimmung von Methyl am N führt zu dem Resultate, daß nur das eine von beiden N-Atomen in Form von Cholin vorliegt, und daß noch eine zweite basische Substanz am Aufbaue dieser Verbindung teilnimmt, welche noch nicht ermittelt werden konnte.

Man wird kaum in der Lage sein, bei der relativ geringen Menge Lipoid, welche man aus den Organen erhält, die Frage nach den basischen Produkten zu lösen, bevor uns nicht das Studium der basischen Spaltungsprodukte der Gehirnlipoide mehr Kenntnisse verschafft hat, da ja dieses Gewebe am reichsten an Phosphatiden ist und die größte Wahrscheinlichkeit bietet, daß man dort zuerst die einzelnen Basen isolieren und deren Konstitution bestimmen kann.

Wir haben also in der Rinderniere bis nun nur drei ungesättigte Phosphatide beobachten können; das eine hat die Eigenschaften des Kephalins und kommt in relativ geringer Menge vor; wir waren nicht in der Lage, dieses in so geringer Menge vorkommende rein darzustellen. Sehr reichlich enthält die Rinderniere ein stark ungesättigtes Phosphatid, welches als Triaminodiphosphatid anzusehen ist, von basischer Natur, zwei Moleküle Salzsäure und zwei Moleküle Chlorcadmium addiert; diese Verbindung ist relativ sehr sauerstoffreich. Zwei von den drei Stickstoffen sind in Form von Cholin enthalten.

Neben dieser Substanz kommt in geringerer Menge ein Diaminomonophosphatid vor, welches weniger ungesättigt ist, keine Salzsäure addiert, also nicht basischen Charakter hat wie die vorher beschriebene Substanz.

Über gesättigte Phosphatide der Niere sowie über vergleichende Untersuchungen bei anderen Tierarten wird später im Rahmen dieser Veröffentlichungen unserer Schule Mitteilung gemacht werden.

Experimenteller Teil.

1700 g ganz frische vom Fett abpräparierte Rindernieren wurden in der Fleischmaschine rasch zerkleinert und der Brei in flachen Porzellanschalen im Thermostaten bei 100° inner-

halb 4 Stunden zur Trocknis gebracht, hierauf mit 3 l Aceton in einem großen, metallenen Soxhlet erschöpfend extrahiert, der Rückstand im Vakuum von Aceton befreit und mit 4 l schwachem Alkohol siedend heiß extrahiert; die erhaltenen Lösungen wurden 24 Stunden bei 0° gehalten, wobei ein Niederschlag in der alkoholischen Lösung entstand. Die acetonige Lösung gab mit Cadmiumchlorid keinerlei Fällung. Aber die acetonige Lösung setzte ebenfalls einen Niederschlag ab. Die beiden Niederschläge aus der acetonigen und alkoholischen Lösung wurden vereinigt, wiederholt mit Aceton ausgekocht und der Rückstand völlig restlos in Äther gelöst. Die ätherische Lösung wurde mit absolutem Alkohol gefällt, wobei eine kephalinartige Substanz ausfiel. Diese wurde in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und nochmals mit absolutem Alkohol gefällt.

Die ätherisch-alkoholische, kephalinfreie Lösung wurde mit alkoholischer Cadmiumchloridlösung versetzt, solange noch ein Niederschlag sich bildete. Diese Fällung wurde abgesaugt, mit absolutem Alkohol gewaschen, und in einem Kolben mit viel thiophenfreiem Benzol so lange unter Destillation erhitzt, bis das übergehende Benzol völlig klar destillierte. Fast der ganze Cadmiumniederschlag war in siedendem Benzol löslich. Die siedende filtrierte benzolische Lösung wurde mit absolutem Alkohol gefällt, die Fällung abgesaugt mit absolutem Alkohol gewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

Ungesättigtes Triaminodiphosphatid.

Wir erhielten auf diese Weise eine leicht gelb gefärbte, pulverige, nicht leicht zerreibliche Masse, welche bei 110° im Thermostaten zur Konstanz getrocknet wurde, wobei sie sich ein wenig färbte.

Wir erhielten von dieser Substanz 10,47 g.

Unter dem Mikroskop erwies sich diese Substanz als nicht krystallisiert.

Sie schmolz bei 205° scharf ohne Zersetzung und ohne vorhergehendes Sintern. Die Löslichkeitsverhältnisse waren folgende:

Unlöslich in Wasser und in absolutem Alkohol, löslich in Äther und in Benzol, unlöslich in Aceton. Die ätherische Lösung wird von Methylacetat gefällt.

Eine verdünnte (etwa 1:100) ätherische Lösung der Substanz drehte die Ebene des polarisierten Lichtes im 1 dm-Rohr nicht. Die Untersuchung konzentrierterer Lösungen oder die Verwendung längerer Röhren scheiterte an der gelben Farbe der Lösungen. Für diese Prüfung wurde ein großer Landolt-Lippichscher Apparat benutzt, welcher noch $^1/_{200}{}^0$ abzulesen gestattet.

Die Analysen dieser Substanzen ergaben folgende Werte:

Die Substanzen waren durchwegs bei 110° zur Konstanz getrocknet:

0,2404 g gaben 0,4211 g CO_2 und 0,1476 g H_2O, entsprechend 47,772°/₀ C und 6,868°/₀ H.

0,5068 g gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Dumas 8,79 ccm N bei T. 17° und B 755,8 mm, entsprechend 2,03°/₀ N.

0,2017 g	gaben	0,0432 g $CdSO_4$,	entsprechend	11,546°/₀ Cd.
0,5020 g	„	0,0549 g $Mg_2P_2O_7$,	„	3,044°/₀ P.
0,4685 g	„	0,2106 g ClAg,	„	11,113°/₀ Cl.

Die Analyse wurde folgendermaßen ausgeführt: C und H wurden mit Bleichromat und vorgelegtem Silber bestimmt.

Für die N-Bestimmung wird viel Substanz wegen der großen N-Armut verwendet.

Die Cadmiumbestimmung erfolgte wegen der Gegenwart von Phosphor nach folgender im hiesigen Laboratorium ausgearbeiteten und für die Analyse von Cadmiumverbindungen der Phosphatide angewendeten Methode, welche vorzüglich stimmende Werte liefert:

„Es werden ungefähr 0,2 g der Substanz in einem Porzellantiegel zur Konstanz gebracht, hierauf mit wenigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure übergossen, und mit sehr kleiner Flamme vorsichtig unter dem Herde abgeraucht; sobald alle Salzsäure und Schwefelsäure abgeraucht ist, wird mit einer stärkeren Flamme erhitzt bis alles verbrannt, hierauf löst man den Rückstand quantitativ in 10°/₀iger Schwefelsäure (etwa 20 ccm) durch Ausspülen des Tiegels, leitet Schwefelwasserstoffgas in die Lösung ein; sobald sich das Cadmiumsulfid gut absetzt, filtriert man das Schwefelcadmium auf einem schwedischen Filter von 5 cm Durchmesser und wäscht mit 10°/₀iger Schwefelsäure nach. Hierauf bringt man den Trichter mit Schwefelcadmium über einen ausgeglühten und gewogenen

Porzellantiegel und löst das Schwefelcadmium auf dem Filter mit wenig heißer 18 %iger Salzsäure und wäscht mit dieser nach. Das Filtrat im Tiegel wird auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht, mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure abgeraucht, geglüht und gewogen. Auf diese Weise gelingt es, die Phosphorsäure völlig zu entfernen. Das Wägen des Cadmiumsulfats ist viel sicherer als das des Cadmiumsulfids (s. auch Treadwell. Lehrb. d. anal. Chem. 2).

Die Phosphorsäure wurde, wie immer bei unseren Analysen nach der etwas umständlicheren, aber sehr sicheren Methode von Woy bestimmt.

Die Zusammenstellung der Analysenresultate ergibt in Prozenten:

C	47,772
H	6,868
N	2,03
Cd	11,546
P	3,044
Cl	11,113
O (aus der Differenz)	17,349

Diese Werte lassen, nachdem von den vorhandenen 7 Elemente 6 gewichtsanalytisch bestimmt sind, sich für folgende Formel berechnen:

$$C_{78}H_{133}N_3Cd_2Cl_6P_2O_{21}.$$

Diese Formel ergibt berechnet:		Gefunden:
C	48,11	47,772
H	6,83	6,868
N	2,15	2,03
Cd	11,54	11,546
P	3,18	3,044
Cl	10,92	11,113

Leider standen uns bei diesem Versuche nicht genügende Mengen für eine Wiederholung der Analyse zur Verfügung, so daß wir diese Formel mit aller Reserve aufstellen wollen, da erst die Hydrolyse uns mehr über die Natur dieser Substanz belehren kann und wir vorläufig nur unser Augenmerk auf die Relation der für die Phosphatide charakteristischen Elemente N und P lenken.

Die Substanz ist nach dieser Analyse als das Dichlorhydrat einer Dicadmiumchloridverbindung aufzufassen, und zwar ist die zugrunde liegende Substanz eine Salzsäure addierende basische Substanz, welche als Triaminodiphosphatid aufzufassen ist. Zwei Stickstoffe sind anscheinend in der Lage, Salzsäure zu addieren. Der dritte scheint in anderer Bindung vorzuliegen.

Um einiges über die Natur dieser Verbindung zu erfahren, wurden noch folgende Bestimmungen ausgeführt:

Jodzahl.

0,3000 g wurden in 20 ccm Chloroform gelöst und 25 ccm Hüblsche Jodlösung zugesetzt und 24 Stunden im Dunklen gehalten und dann in üblicher Weise rücktitriert. Die Verbindung verbrauchte 0,190455 g J, entsprechend einer Jodzahl von 63,485.

Rechnet man nun diese Jodzahl auf die der analysierten Verbindung zugrunde liegende Cadmium- und chlorfreie Substanz $C_{78}H_{131}N_3P_2O_{21}$ um, so ergibt sich folgende Berechnung:

0,3 g der Cadmiumverbindung entsprechen 0,2322 g des freien Phosphatids, welche also 0,190455 g J verbrauchte, daher ist die umgerechnete Jodzahl 82.

Dieses Triaminodiphosphatid ist also eine stark ungesättigte Substanz.

Bestimmung der Methylgruppen am N.

Diese Bestimmung wurde nach der Methode von Herzig und H. Meyer ausgeführt. Es wurde zuerst die Methoxylbestimmung und dann die Methyl-am-N-Bestimmung durchgeführt. Es zeigte sich hierbei, was nicht ohne weiteres vorauszusetzen war, daß man diese Bestimmung in den Cadmiumverbindungen der Phosphatide durchführen kann.

Verwendet wurde 0,7121 g Substanz, diese lieferten im Glycerinbade 0,1257 g Jodsilber, bei weiterem Erhitzen im Sandbade 0,3002 g Jodsilber.

Es scheint, daß sich schon im Glycerinbade ein Teil der Methylradikale abspalten läßt, wie es ja wiederholt von G. Goldschmied u. a. beobachtet und beschrieben wurde.

Addiert man die in beiden Bestimmungen resultierenden Jodsilberwerte, so ergibt sich daraus 0,4259 g JAg

$$0{,}00801966 + 0{,}01915276 = 0{,}02717242 \text{ g } CH_3$$

entsprechend 3,8 % Methyl, während sechs CH_3-Gruppen entsprechend zwei Trimethylamin- resp. zwei Cholingruppen 4,61 % Methyl verlangen. Fünf Methylgruppen verlangen 3,85 % Methyl. Ein Vorkommen eines Dimethylamins neben einem Trimethylamin erscheint weniger wahrscheinlich als zwei Cholingruppen.

Da die Fehlergrenze nach Herzig und Meyer bis — 15 % des gesamten Alkyls bei Verwendung von freier Base oder Jodhydrat beträgt, so wird die Ausbeute an berechnetem Methyl von 82,5 % nicht allzu klein erscheinen und es nach dieser Bestimmung am wahrscheinlichsten sein, daß zwei N sechs Methylgruppen entsprechend in Form von Trimethylamin, resp. Cholin in diesem Phosphatid enthalten sind, was auch mit der durch Analyse gefundenen Addition von zwei Chlorwasserstoffsäuremolekülen völlig übereinstimmt. Über die Art der Bindung des dritten Stickstoffatoms läßt sich nichts aussagen, solange die Hydrolyse nicht weitere Resultate zeitigt.

Diaminomonophosphatid.

Die Nierensubstanz, welche das erstbeschriebene Phosphatid lieferte, wurde nun mit 2 l 96 %igen Alkohol siedend heiß extrahiert und wiederholt, hierauf mit 4 l 85 %igen Alkohol und 10 l 75 %igen Alkohol, bis die alkoholische Lösung mit Cadmiumchlorid keinen Niederschlag mehr gab. Die alkoholischen Lösungen wurden durch Destillation auf 1 l eingeengt; es resultierte eine gelbe Lösung, welche mit alkoholischem Cadmiumchlorid gefällt wurde. Diese Fällung wurde abgesaugt, wiederholt mit absolutem Alkohol gewaschen.

Wir erhielten von dieser Substanz 3,45 g.

Sie wurde bei 110° C zur Konstanz getrocknet.

Weißgelbes Pulver, sehr leicht zerreiblich, fühlt sich nicht so fettig an, wie die erstbeschriebene Substanz.

Unter dem Mikroskop erscheint sie krystallinisch.

Sie schmilzt bei 215° C ohne Aufschäumen und ohne vorheriges Sintern.

Sie ist unlöslich in Wasser, Äther, absolutem Alkohol, in heißem Benzol schwer löslich.

Die Analyse ergab folgende Resultate:

0,2182 g Substanz gaben 0,3032 g CO_2 und 0,1293 g H_2O, entsprechend 37,91 % C und 6,628 % H.

0,2217 g gaben bei der N-Bestimmung nach Dumas 4,57 ccm N bei 15,5° T. und 746,2 B, entsprechend 2,454 % N.

0,2024 g gaben nach der oben beschriebenen Methode 0,0772 g $CdSO_4$, entsprechend 20,561 % Cd.

0,3951 g gaben nach Woy 0,0416 $Mg_2P_2O_7$, entsprechend 2,93 % P.

Zusammenstellung der analytischen Resultate.

Gefunden	Berechnet für $C_{31}H_{74}N_2PO_{10}.2(CdCl_2)$
C 37,91	38,20
H 6,628	6,93
N 2,454	2,62
P 2,93	2,90
Cd 20,561	21,05

Nach dieser Analyse wäre die Substanz als Diaminomonophosphatid anzusprechen, welches für je einen Stickstoff ein Molekül $CdCl_2$ addiert.

Leider konnten mit diesen geringen Mengen weitere Bestimmungen nicht ausgeführt werden. Der Rest reichte nur für die folgenden zwei Untersuchungen aus.

Jodzahl.

0,3100 g Substanz verbrauchten bei der Jodzahlbestimmung nach Hübl 0,0774517 g J, entsprechend einer Jodzahl von 25,81.

Rechnet man diese auf die chlorcadmiumfrei Substanz um, so ergibt sich als Jodzahl 37,83.

Bestimmung von Methyl am N.

0,1441 g Substanz gaben im Glycerinbade 0,0175 g JAg
im Sandbade 0,0809 g JAg
0,0984 g JAg

entsprechend 4,35 % Methyl.

Berechnet für drei Methylgruppen 4,17 % Methyl.

Aus dieser Analyse läßt sich schließen, daß eines von den beiden Stickstoffatomen in Form von Cholin enthalten ist.

Leider können wir mangels weiterer Substanz und bei der großen Schwierigkeit ihrer Reindarstellung nichts weiteres über die Natur dieses Diaminomonophosphatids aussagen.

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

III. Mitteilung.

Über die Wechselwirkung der ungesättigten Nierenphosphatide mit Farbstoffen.

Von

Alexander Nogueira, Montevideo.

(Aus dem Laboratorium der L. Spieglerstiftung in Wien.)

(Eingegangen am 10. Februar 1909.)

Es war für uns von Interesse zu sehen, ob nicht etwa die in der vorhergehenden Mitteilung beschriebenen drei Nierenphosphatide in Beziehungen stehen zu den Veränderungen des Methylenblaues beim Passieren der Niere.

Paul Ehrlich[1]) hat schon im Jahre 1885 Farbstoffe benützt, um die oxydierenden und reduzierenden Eigenschaften des lebenden Protoplasmas zu studieren. Es ist ja bekannt, daß die Grundlage dieser Methode die Umwandlung resp. Reduktion der verschiedenen Farbstoffe in ungefärbte resp. weniger farbige Körper, also Leukoderivate, ist.

Ein Jahr später publizierte Ehrlich[2]) seine neue Methode der vitalen Nervensystemfärbung mittels Methylenblau und erklärte die verschiedene Färbungsfähigkeit in den differenten Partien des Nervensystems folgendermaßen: „Nervenbläuung und Sauerstoffsättigung stehen in Konnex zueinander, indem

[1]) P. Ehrlich, Sauerstoffbedürfnis des Organismus, 1885.

[2]) P. Ehrlich, Methylenblaureaktion des lebenden Nervensystems. Deutsche med. Wochenschr. 1886.

nur die nicht mit Sauerstoff annähernd gesättigten und daher nicht reduktionskräftigen Nervenendigungen sich mit Methylenblau bereichern."

Auf dem Gebiete der Physiologie und der klinischen Untersuchungsmethoden sind diese Untersuchungen nach Ehrlich fortgesetzt worden und wie schon Ehrlich in seinen Arbeiten erwähnt, nach zwei verschiedenen Richtungen hin: erstens wurde die Durchgängigkeit der verschiedenen Farbstoffe durch die Plasmahaut und zweitens die Reduktions- und Oxydationsfähigkeit der verschiedenen Gewebe den Farbstoffen gegenüber studiert. Auf dem ersten Gebiete ergaben die Studien von Overton, daß die Farbstoffe ihre Eigenschaft, vital zu färben, ihrer Löslichkeit in Lipoiden verdanken; diese Substanzen sind in der Plasmahaut nach Overton enthalten. Die histochemischen Untersuchungen haben aber kein definitives Resultat ergeben.

Bei physiologischen Prüfungen der Nieren mit Farbstoffen sieht man, daß die Farbstoffe in verändertem Zustande ausgeschieden werden. Man bemühte sich lange, die Art und Weise der Veränderungen dieser Farbstoffe zu studieren. Insbesondere bei der Nierenfunktionsprüfung mit Methylenblau ergibt sich die große Schwierigkeit, sich darüber klar zu werden, wie und weshalb ein Chromogen in normalen und in größeren Mengen in verschiedenen pathologischen Fällen ausgeschieden wird.

Die Phosphatide, welche wir in der zweiten Mitteilung dieser Serie studierten, sind besonders sauerstoffavid, und man konnte denken, daß diese Substanzen eine große Rolle in dem Oxydations- und Reduktionsprozesse des Protoplasmas spielen und an der Reduktion des Methylenblaus zum Leukoderivat beteiligt sind.

Das Methylenblau ist ein Tetramethylthioninchlorid der Formel

$$N \langle \begin{array}{l} C_6H_3 - N(CH_3)_2 \\ \quad\ \rangle S \\ C_6H_3 - N(CH_3)_2Cl \end{array} + 3H_2O.$$

Von diesem Tetramethylthioninchlorid sind verschiedene Leukoderivate erhalten worden, aber nur eins ist chemisch definiert und zwar der Tetramethyldiaminothiodiphenylamin

$$NH\left\langle\begin{array}{l} C_6H_3 - N(CH_3)_2 \\ C_6H_3 - N(CH_3)_2 \end{array}\right\rangle S,$$

welches aus Methylenblau durch Reduktion mit $Na_2S_2O_4$ entsteht. Dieses Leukoderivat oxydiert sich leicht an der Luft und ist in Wasser schwer löslich.

Bei Verwendung des Methylenblaus zu physiologischen und klinischen Untersuchungen hat man neue Leukoderivate, welche sich von einander unterscheiden durch die Entstehung, die Löslichkeit oder die Eigenschaft, sich durch verschiedene Oxydationsmittel in Methylenblau umzuwandeln, beobachtet. F. Müller[1]) unterscheidet: 1. Ein Leukomethylenblau, dessen Bildung Achard und Castaigne durch alkalische Harngärung erklären. 2. Das durch Kochen mit Essigsäure aus Harn darstellbare, in Chloroform unlösliche Leukoderivat. Dieses ist zum ersten Male von Voisin und Hauser[2]) im Harn gefunden worden. 3. Eine von den französischen Autoren nicht erwähnte, durch Kochen ohne Säurezusatz aus Harn darstellbare Substanz. Diese verschiedenen Leukoderivate wurden noch nicht in vitro dargestellt und entstehen nur durch vitale Reaktionen.

Von diesen verschiedenen Leukoderivaten erscheint als wichtigstes das von Voisin und Hauser beobachtete, welches konstant in normalen Fällen und in größerer Menge in verschiedenen pathologischen Fällen ausgeschieden wird.

Verschiedene Erklärungen sind schon für das Entstehen dieses Chromogens von Voisin und Hauser gegeben worden. Diese Autoren glauben, daß durch die reduzierenden Substanzen im Harne diese Reduktion bewirkt wird. Linossier und Bargin[3]) geben an, daß die alkalische Reaktion des Harnes das Methylenblau in Chromogen umwandelt. Diese Erklärung ist nur teilweise richtig: Bei der Einwirkung der Bakterien im Harne entsteht die bekannte alkalische Reaktion, und bei Methylen-

---

[1]) F. Müller, Über die Ausscheidung des Methylenblaus durch die Niere. Arch. f. klin. Med. 63, 1899.

[2]) Voisin et Hauser, Remarques sur l'élimination rénale du bleu de méthylène. Gaz. hebdomadaire 1897.

[3]) Linossier et Bargin, Influence de la réaction de l'urine sur l'élimination du bleu de méthylène. Compt. rend. de la soc. de Biol. 1898.

blauinjektion und alkalischer Harngärung entsteht ein Chromogen (von Achard und Castaigne gefunden), das von dieser alkalischen Harngärung abhängig ist.

Es ist also von Voisin und Hauser keine Erklärung für das Entstehen dieses Chromogens gegeben worden, da ja dieses von der alkalischen Harngärung unabhängig ist. Selbst die Stelle des Organismus, an der diese Methylenblaureduktion stattfindet, ist ganz unbekannt. Müller[1]) sowie Achard und Castaigne[2]) geben an, daß die Reduktion des Methylenblaus zum Chromogen im Blute stattfindet und daß in der Niere dieses Chromogen teilweise oxydiert wird. Die Untersuchungen von Albarran und Bernard haben keine sicheren Resultate gezeitigt; vielleicht verursacht die große Verdünnung des Methylenblaus im Blutserum experimentelle Schwierigkeiten. Ehrlich[3]) glaubt, daß die verschiedenen Farbstoffe, die zu Experimenten verwendet werden, im Blutserum nur in oxydierten Formen bestehen können, und daß die Reduktionsprozesse in den stark reduktionsfähigen Organen, wie Leber, Niere, Lunge usw., stattfinden.

Nur die genaue Erkenntnis der chemischen Eigenschaften der verschiedenen Gewebe kann uns erlauben, diese Probleme zu erklären, und diesen Weg haben wir in der Niere gewonnen, indem wir diese drei ungesättigten sauerstoffaviden Phosphatide, welche wir in der vorhergehenden Mitteilung beschrieben haben, insbesondere in ihrer Wechselwirkung mitMethylenblau geprüft haben.

1. Das ungesättigte Triaminodiphosphatid wurde mit einer wässerigen Lösung von Methylenblau geprüft. In der Kälte trat eine schwache Entfärbung, welche bei Erwärmen bei ungefähr 50° stärker wurde, ein. Beim Schütteln mit Luft wird die blaue Farbe nicht regeneriert; bei Zusatz von Essigsäure und beim Kochen tritt die blaue Färbung wieder auf, ohne daß die Färbung die ursprüngliche Intensität wieder erreichen würde. Die reduzierte Lösung wurde mit Chloroform geschüttelt, wodurch das Chloroform sich schwach bläute. Ver-

---

[1]) Müller loc. cit.

[2]) Achard et Castaigne, L'examen clinique des fonctions rénales par l'élimination provoquée, 1900.

[3]) P. Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus.

setzt man die mit Chloroform extrahierte Lösung mit Essigsäure und kocht auf, so erhält man wieder eine blaue Färbung. Das verwendete Methylenblau, welches in Chloroform unlöslich ist, wird von diesem ungesättigten Phosphatid in schwacher Weise in das Leukoderivat, welches dem Chromogen von Voisin und Hauser entspricht und teilweise im chloroformlösliches Methylenblau, wie es im menschlichen Harn vorkommt, umgewandelt. Ein Teil des Methylenblaus wurde nicht regeneriert.

2. Die Prüfung aber mit dem weniger ungesättigten Diaminomonophosphatid gab eine starke Reduktion zu einem Chromogen bei schwachem Anwärmen. Bei Zusatz von Essigsäure und Kochen wurde die primäre Färbung vollständig wieder restituiert.

3. Die kephalinartige Substanz wandelte die blaue Lösung in eine grünblaue Lösung um, bei schwachem Erwärmen trat ein Ausblassen in Grün auf. Bei Schütteln mit Luft wird die ursprünglich blaue Farbe nicht regeneriert, aber bei Kochen und Zusatz von Essigsäure entsteht eine trübe, vollständig blaue Flüssigkeit. Es scheint, daß diese kephalinartige Substanz auch das Chromogen von Voisin und Hauser produziert, aber es ist merkwürdig, daß die Reduktion teilweise eine grüne Substanz liefert. Wir erwähnen, daß das Methylenblau beim Hunde sehr oft und beim Menschen selten (es wurde dies selten, nur in 3 bis 4 Fällen beobachtet) als grüner Farbstoff ausgeschieden wird.

Keines der drei Nierenphosphatide reagiert mit Indigkarmin. Von den drei dargestellten und geprüften Phosphatiden hat das am stärksten gesättigte die stärkste entfärbende Kraft für Methylenblau. Eine chemische Erklärung für das Zustandekommen müssen wir vorläufig schuldig bleiben.

Wir wissen aber, daß gewisse pathologische Nieren weitaus stärker Methylenblau vital entfärben, als normale. Wir möchten daher die Ansicht äußern, daß es sich vielleicht um eine Anreicherung des pathologischen Gewebes an dem beschriebenen stark entfärbenden Diaminomonophosphatid handelt und möchten die Aufmerksamkeit der Fachgenossen darauf lenken, gegebenenfalls darauf zu achten.

Zur Isolierung der Leberfermente, insbesondere des gelatinolytischen Leberfermentes.

Von

S. Hata, Tokio.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(*Eingegangen am 14. Februar 1909.*)

Für die weitere Entwicklung der Kenntnisse auf dem Gebiete der proteolytischen Organfermente und der übrigen Zellfermente ist es durchaus wünschenswert, einigermaßen gereinigte und doch gut wirksame Organextrakte zur Verfügung zu haben. Speziell für die eiweißspaltenden Zellfermente muß man versuchen, zu Methoden zu gelangen, bei denen die Enzyme zugesetzte Eiweißkörper verdauen. Um größere Versuchsreihen durchführen zu können, ist es notwendig, Verfahren anzuwenden, welche ein quantitatives Arbeiten ohne zeitraubende Stickstoffbestimmungen ermöglichen.

In den ersten Versuchen wurde so vorgegangen, daß frische Pferdeleber möglichst vom Bindegewebe befreit, fein zerhackt, gewogen, mit Quarzsand und Kieselgur zerrieben, dann mit 0,85 $^0/_0$iger Kochsalzlösung (1 ccm pro 1 g Leber) versetzt und 1 Stunde auf dem Schüttelapparat geschüttelt wurde. Über Nacht blieb dieser Leberbrei auf Eis stehen. Nach 20 Stunden wurde dann der Saft durch ein Tuch mit Hilfe einer Preßmaschine ausgepreßt und durch Papier filtriert. Die Filtration ging ganz langsam von statten, und das Filtrat war noch stark trüb und reagierte schwach sauer.

Zur quantitativen Bemessung der Wirksamkeit des Fermentes brauche ich immer die Fermische Gelatinemethode, und zwar in folgender Weise: In eine Reihe von ungefähr gleich

großen Reagensgläsern werden absteigende Mengen der zu untersuchenden Fermentlösung eingefüllt. Mit physiologischer Kochsalzlösung wird der Inhalt aller Röhrchen auf gleiches Volumen, in der Regel auf 1 ccm, aufgefüllt. Dazu kommt 0,5 ccm von $^{n}/_{10}$-Salzsäure und 2 ccm von mit Chloroform versetzter $5^{0}/_{0}$iger Gelatinelösung. Dieses Gemisch bleibt 6, 12, 24 Stunden lang im Brutschrank, dann eine Nacht im Eisschrank.

Nach dieser Methode zeigte der eben beschriebene trübe Lebersaft folgende Gelatine verflüssigende Kraft:

Menge des Saftes in ccm	Nach 6 stündiger Digestion bei 38°	Nach 12 stündiger Digestion bei 38°
0,1	fest (—)	fest (—)
0,2	fest (—)	fest (—)
0,3	fest (—)	weich (±)
0,5	weich (±)	flüssig (+)
0,7	weich (+)	flüssig (+)
1,0	fest (—)	flüssig (+)

Wie man aus dieser Tabelle ersieht, wird die Gelatinverflüssigung mit der ansteigenden Fermentmenge immer deutlicher, bei 6 stündiger Verdauung war aber auffallenderweise bei höchster Fermentmenge wieder eine schwächere Wirksamkeit zu erkennen. Dieses scheinbar paradoxe Verhalten ist jedoch nicht schwer zu erklären. Weil das Filtrat noch sehr viel Zelltrümmer enthält und demzufolge sehr reich an Eiweißgehalt ist, kann man sich vorstellen, daß ein Teil der zugesetzten Salzsäure sich mit dem Eiweiß verbindet, mit zunehmender Filtratmenge die freie Säure immer abnimmt und infolgedessen das Ferment seine Wirkung auf die Gelatine nicht entfalten kann. Das war wirklich der Fall. Wenigstens wurden bei den späteren Versuchen, in denen eiweißärmere Fermentlösungen angewandt werden, solche Unregelmäßigkeiten nicht mehr beobachtet.

Viele andere Pferdelebern wurden nach demselben Verfahren, manchmal auch mehrere Tage lang entweder auf Eis oder auch unter Chloroformzusatz bei Zimmertemperatur extrahiert. Die Resultate waren ungefähr dieselben. Die Schwankung der Wirksamkeit der einzelnen Lebersäfte war nicht sehr groß. Mit einer Ausnahme von einer besonders glykogen-

reichen Leber, welche durch einfaches Extrahieren mit physiologischer Kochsalzlösung ohne vorheriges Zerreiben mit Sand eine starke Fermentlösung gab (0,2 ccm verflüssigten binnen 6 Stunden 2 ccm Gelatine), gaben die Lebern Extrakte, von denen 0,4 bis 0,7 ccm imstande waren, 2 ccm Gelatine in 6 Stunden zu erweichen und in 12 Stunden zu verflüssigen.

Nachdem dann durch mehrere vergleichende Untersuchungen festgestellt worden war, daß einfaches Extrahieren mit physiologischer Kochsalzlösung ohne vorangegangenes Zerreiben mit Quarzsand ein ebenso gutes Resultat gibt wie mit diesem Vorverfahren, also dieser ziemlich mühsame Handgriff sich gar nicht lohnt, verfuhr ich einfach folgendermaßen. Eine möglichst fein zerhackte und gewogene Leber mit Kochsalzlösung (1 ccm pro 1 g) versetzt, gut geschüttelt, blieb eine Nacht auf Eis stehen. Dann wurde der Brei durch ein Koliertuch geseiht und ausgepreßt, die Flüssigkeit wieder filtriert. Das Filtrat, dem Chloroform zugesetzt wurde, wurde im Eisschrank aufbewahrt. Vor der Filtration vermeidet man möglichst einen Zusatz von antiseptischen Mitteln, besonders von Toluol, das die nachherige Arbeit erschwert. Selbstverständlich muß man darauf achten, so schnell wie möglich und an einem kühlen Ort das ganze Verfahren durchzuführen, um die inzwischen eintretende Fäulnis nach Kräften zu vermeiden.

Das dieses einfache Verfahren ganz gleiche Resultate liefert wie die vorher erwähnte Kieselgurzerreibungsmethode, zeigt folgendes Beispiel:

Extraktmenge in ccm	Nach 15stündiger Digestion bei 38° mit	
	einfachem Extrakt	dem mit vorheriger Kieselgurzerreibung gewonnenen Extrakt
0,1	—	—
0,2	—	—
0,3	+	+
0,5	+	+
0,7	+	+
1,0	+	+

Solches Extrakt hat aber noch viele Nachteile. Erstens ist es noch ganz trüb und für manche weitere Arbeiten unbequem. Viele Bemühungen, die Extrakte durch Kieselgurfilter

oder Tonfilter zu filtrieren, ließen mich in Stich. Dabei bekam man eine entweder ganz wenig wirksame oder noch etwas trübe und sehr schwach wirksame Flüssigkeit. Ferner hat das Extrakt noch eine große Menge von Eiweiß, so daß es sehr oft bei 6stündiger Digestion jenes oben beschriebene paradoxe Resultat ergab. Dies ist besonders unangenehm für genauere Untersuchungen.

Zu einem besseren Verfahren gelangte ich, indem ich an gewisse Erfahrungen von Jacoby anknüpfte. Jacoby[1]) hat gezeigt, daß das Trypsin durch Salzsäure von Fibrinflocken, an die es adsorbiert ist, abgelöst werden kann. Von dieser Vorstellung aus setzte ich dem trüben Leberextrakt verschiedene Mengen $^{n}/_{10}$-Salzsäure, $^{1}/_{3}$, $^{1}/_{2}$, $^{3}/_{4}$, 1 Volumen zu 1 Volumen Extrakt, hinzu. Nach einigen Stunden wurden diese Gemische filtriert. Diese Filtration ging ziemlich langweilig, und nach der Filtration blieb ein ganz geringer Rückstand, dementsprechend war das Filtrat noch ganz trüb. Also diese Filtration ist fast zwecklos. Das Filtrat wurde nur mit normaler Sodalösung ganz vorsichtig neutralisiert. Bei der Neutralisation muß man darauf achten, daß man immer etwas weniger Sodalösung anwendet, als der vorher zugesetzten Salzsäuremenge eben äquivalent ist. Nach der gut ausgeführten Neutralisation ging die Filtration nunmehr sehr leicht und schnell, und einmalige Filtration durch gewöhnliches Filtrierpapier gab schon ein ganz klares Filtrat. Nach wiederholten Versuchen fand ich es am besten, daß man ein Volumen von $^{n}/_{10}$-HCl oder noch zweckmäßiger $^{1}/_{10}$ Volumen von Normalsalzsäure zu einem Volumen Extrakt zusetzt, und nach einer Stunde ohne vorhergehende Filtration neutralisiert, dann filtriert.

Das nach diesem Verfahren gewonnene klare Filtrat zeigte, nach seinem Volumenverhältnisse umgerechnet, ebenso starke oder manchmal noch etwas stärkere proteolytische Wirkung, wie die trübe Flüssigkeit, von der das betreffende Filtrat stammte, und trat bei diesem niemals jenes umgekehrte Verhältnis zutage, wie es bei jener fast immer der Fall war. Ein Beispiel sieht man in A und B der weiter unten anzuführenden Tabelle.

---

[1]) Diese Zeitschr. 2, 144, 1906.

Nachdem ich durch diese Versuche mich davon überzeugt hatte, daß die Salzsäure beim Kontakt mit dem Fermente das letztere nicht im geringsten schädigt, bildete ich das Verfahren noch einen Schritt weiter aus. Ich setzte nämlich direkt zu der zerhackten Leber die Säure und etwas Chloroform zu, und ließ das Gemisch eine Zeitlang entweder im Brutschrank oder bei Zimmertemperatur stehen, damit die Autolyse der Leber vor sich gehen konnte und das endocelluläre Ferment in Lösung geht. Nach verschiedener Zeit wurde das Digestionsgemisch durch vierfache Gaze koliert und mit der Hand ausgepreßt, dann mit Sodalösung neutralisiert und filtriert.

Dieses Filtrat hatte sehr starke Kraft. Natürlich hat hier die Zeit und Temperatur, bei der die Digestion der Leber stattgefunden hat, bis zu einem gewissen Grade eine Bedeutung hinsichtlich der Wirksamkeit des Produktes. Ein dafür ausschlaggebendes Beispiel gibt ein bald zu erörternder vergleichender Versuch, der mit Hilfe verschiedener Methoden an ein und derselben Leber ausgeführt wurde.

Von einer fein zerhackten Pferdeleber wurden 8 Portionen von je 100 g abgewogen und folgendermaßen behandelt. Die erste Portion wurde in einer Reibschale tüchtig zerrieben und mit 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung versetzt. In einem Kölbchen blieb sie über Nacht auf Eis stehen. Dann wurde sie durch ein Tuch koliert und filtriert. Das noch ganz trübe und schwach saure Filtrat betrug im ganzen 75 ccm. (Dieses Filtrat bezeichnet man mit A.) Ein Teil von A wurde mit $^1/_{10}$ Volumen von normaler Salzsäure angesäuert. Nach 2 Stunden wurde mit normaler Sodalösung ganz vorsichtig neutralisiert und filtriert. Das gewonnene ganz klare Filtrat bezeichnen wir mit B.

Die anderen 7 Portionen wurden mit 100 ccm $^n/_{20}$-Salzsäure, welche daneben 0,85% Kochsalz enthält, und 10 ccm Chloroform versetzt. Diese Gemische gut geschüttelt blieben entweder im Brutschrank oder bei Zimmertemperatur verschiedene Zeit lang, und wurden wiederholt geschüttelt. Nach bestimmten Zeiten wurden sie durch Gaze koliert, mit normaler Sodalösung neutralisiert und filtriert. Die folgende Tabelle unterrichtet über die Einzelheiten der Resultate des Versuchs.

Nummer der Portion	Digestions-temperatur	Digestions-dauer	Menge von Colat ccm	Soda zur Neu-tralisation ccm	Filtrat		
					Eigenschaft	Menge ccm	Bezeich-nung
2	38°	24 Std.	135	4,2	klar bräunlich	125	C
3	„	3 Tage	132	3,6	klar gelblichbraun ein Stich in Grün	123	D
4	„	5 „	135	3,5	„	124	E
5	Zimmer-temperatur	24 Std.	135	4,2	klar rötlichbraun	128	F
6	„	3 Tage	135	4,0	klar braun	128	G
7	„	5 „	132	3,8	„	125	H
8	„	7 „	130	3,5	„	125	I

Wie man aus diesem Beispiel leicht ersieht, bekommt man bei einfacher Extraktion mit Kochsalzlösung trotz mühsamer Auspressung viel weniger Extrakt als beim Digestionsverfahren, welches ganz leicht und antiseptisch durchführbar ist.

Ein besonderer Vorteil dieser Methode besteht aber in der Wirksamkeit der gewonnenen Flüssigkeit, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Bei der Digestion der Leber im Brutschrank geht die Wirksamkeit des Fermentes mit der Zeit verloren, dagegen steigt sie bei Zimmertemperatur immer an. Am besten geeignet ist also eine 7tägige Digestion bei Zimmertemperatur.

Ist das Eiweiß durch die Behandlung mit Säure und Alkali größenteils beseitigt, so enthält das Filtrat doch noch so viel Proteine, daß bei einfachem Kochen ein deutliches Koagulat sich bildet.

Um das Filtrat von dem Eiweiß möglichst zu befreien, versuchte ich die Jacobysche Uranylacetatmethode. Eine nach dieser Methode gereinigte Fermentlösung zeigte zwar H_2O_2-zersetzende Wirkung, aber keine gelatinolytische Kraft.

In bezug auf fraktionierte Fällung habe ich einige Versuche mit Alkohol und schwefelsaurem Ammonium angestellt, und fand dies besser als jenes.

Eine Fermentlösung, welche durch eintägige Digestion bei 38° gewonnen war, wurde mit Alkohol versetzt, bis eben 30%ige Konzentration erreicht war. Dabei entstand aber nur eine leichte Opalescenz. Erst bei einem Alkoholzusatz von 40% trat eine bemerkbare Trübung hervor. Nach 20 Minuten wurde es filtriert, auf dem Filter blieb nur wenig Rückstand. Das

Verflüssigung von 2 ccm 5%iger Gelatinelösung mit der eben beschriebenen verschiedenen Lebersäften.

(+ zeigt Verflüssigung, ± Erweichung, — keine sichtbare Veränderung.)

Verschiedene Lebersäfte		Verdauungs-Zeit	Menge von den Säften in ccm										
			0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Einfacher Extrakt	A	6 Std.	—	—	—	—	—	±	±	±	±	±	—
		12 „	—	—	—	—	±	+	+	+	+	+	+
A behandelt mit HCl und Na_2CO_3	B	6 Std.	—	—	—	—	—	±	±	+	+		
		12 „	—	—	—	—	—	+	+	+	+		
bei 38° Verdaute	C	6 Std.	—	—	±	+	+	+	+	+	+		
		12 „	—	—	+	+	+	+	+	+	+		
	D	6 Std.	—	—	—	±	+	+	+	+	+		
		12 „	—	—	±	+	+	+	+	+	+		
	E	6 Std.	—	—	—	—	—	±	±	+	+		
		12 „	—	—	—	—	±	±	+	+	+		
bei Zimmertemperatur Digestierte	F	6 Std.	—	—	—	±	+	+	+	+	+		
		12 „	—	—	—	+	+	+	+	+	+		
	G	6 Std.	—	—	—	+	+	+	+	+	+		
		12 „	—	—	±	+	+	+	+	+	+		
	H	6 Std.	—	—	±	+	+	+	+	+	+		
		12 „	—	—	+	+	+	+	+	+	+		
	I	6 Std.	—	—	+	+	+	+	+	+	+		
		12 „	—	±	+	+	+	+	+	+	+		

Filtrat wurde auf eine Alkoholkonzentration von 85% gebracht. Nun entstand ein reichlicher voluminöser Niederschlag. Nach 1 Stunde wurde dieser abfiltriert. Die beiden Fraktionsniederschläge wurden in einer dem Ausgangsvolumen entsprechenden Flüssigkeitsmenge aufgelöst und zeigten folgende Wirkung:

	Nach	0,15	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	1,0	2,0
Erste Fraktion	6 Std.								—	—
	12 „								—	±
Zweite Fraktion	6 Std.	—	—	—	—	±	+	+	+	
	12 „	—	—	—	±	±	+	+	+	
Ausgangsfermentlösung	6 Std.	—	±	+	+	+	+	+	+	
	12 „	—	+	+	+	+	+	+	+	

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß schon bei 40% Alkohol ein wenig von Ferment ausgefällt wird. Aber durch 30% Alkohol wird fast kein Eiweiß beseitigt.

Dieselbe Fermentlösung wurde mit einer gesättigten mit einem Tropfen Ammoniak neutralisierten und filtrierten $(NH_4)_2SO_4$-Lösung versetzt, bis 33%ige Sättigung erreicht war. Dabei entstand eine ziemlich deutliche Trübung und darauf etwas Niederschlag. Nach der Filtration wurde das Filtrat weiter bis zu 70%iger Sättigung gebracht und wieder filtriert. Beide Fraktionen zeigten folgende Wirksamkeit:

	Nach	0,15	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	1,0	2,0
Erste Fraktion	12 Std.							—	—	—
Zweite Fraktion	6 Std.	—	—	—	±	+	+	+	+	
	12 „	—	—	±	+	+	+	+	+	

Originalfermentlösung wie oben.

Selbstverständlich kann man durch Dialysieren das Salz beseitigen, wenn es nötig ist. Dabei muß man ziemlich viel Ferment opfern.

Durch Sublimatzusatz kann man mehr Eiweiß wegschaffen als durch die eben beschriebene Fraktionierung. Durch Sublimat unwirksam gewordenes Ferment wird bei geeigneter Methode fast vollkommen reaktiviert. Das Verhalten zwischen Ferment und Sublimat wird in einer weiteren Mitteilung bald veröffentlicht werden.

Das proteolytische Ferment der Leber wird durch 20 Minuten lange Erhitzung auf 55° noch nicht, bei 60° nahezu vollkommen, bei 70° gänzlich vernichtet.

Was die anderen fermentativen Wirkungen des Lebersaftes betrifft, so will ich hier nur so viel berühren, wie es mit der oben angegebenen Darstellungsmethode in Beziehung steht. Das H_2O_2-zersetzende Enzym ist mit dieser Methode ganz gut zu extrahieren und weiter mit Alkohol oder $(NH_4)_2SO_4$ zu reinigen. Aldehydase der Leber läßt sich auch mit dieser Methode, der Digestion bei Zimmertemperatur, so gut darstellen wie mit Uranylacetat. Fibrin, geronnenes Hühnereiweiß, erwärmtes Serumeiweiß konnte ich weder mit frischem Leberextrakt noch mit dem durch Digestion dargestellten Präparate in irgend einer Reaktion zur Auflösung bringen. Ebensowenig gelang es mir, Labwirkung nachzuweisen.

Der Einfluß des Äthylalkohols auf die Hefegärung.

Von

Martin Kochmann.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 23. Februar 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Der Äthylalkohol verdankt für gewöhnlich seine Entstehung der Einwirkung des von der Bierhefe produzierten Fermentes, der Zymase, auf Traubenzuckerlösungen, die dann bekanntlich in Äthylalkohol und Kohlensäure zerlegt werden. Vom allgemein biologischen Standpunkte ist es gewiß nicht ohne einiges Interesse, zu erfahren, ob dem Alkohol ein Einfluß auf diese fermentative Tätigkeit zukomme und in welchem Sinne, befördernd oder schädigend, eine etwaige Wirkung sich geltend macht.

Mit Hilfe des von H. Schulz angegebenen Gärungsapparates ist es mit nicht zu großen Schwierigkeiten verknüpft, den Gärungsvorgang graphisch zu registrieren. Das Prinzip des Apparates, den H. Schulz[1]) vor einiger Zeit ausführlich beschrieben hat, ist kurz folgendes: Aus einem mit Traubenzuckerlösung und Bierhefe beschickten Gärkolben, der in einem Thermostaten bei konstanter Temperatur gehalten wird, wird die produzierte Kohlensäure in ein kleines Quecksilbermanometer geleitet. Durch den von der CO_2 hervorgerufenen Druck steigt die Quecksilbersäule und schließt dabei einen elektrischen Stromkreis, in den zwei Magnetspulen eingeschaltet sind. Der eine der Magneten schnellt eine Metallspitze gegen ein gleich-

---

[1]) H. Schulz, Ein Apparat zur graphischen Darstellung von Gärungsvorgängen. Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 51, 1907.

mäßig fortlaufendes Papier, der andere reißt ein Ventil in die Höhe, welches der im Manometer befindlichen Kohlensäure gestattet, nach außen zu entweichen. Das Ventil bleibt durch eine sinnreiche Einrichtung (Schließung eines zweiten Stromkreises bei Schluß des ersten) so lange geöffnet, bis der Quecksilberspiegel wieder auf Null herabgesunken ist.

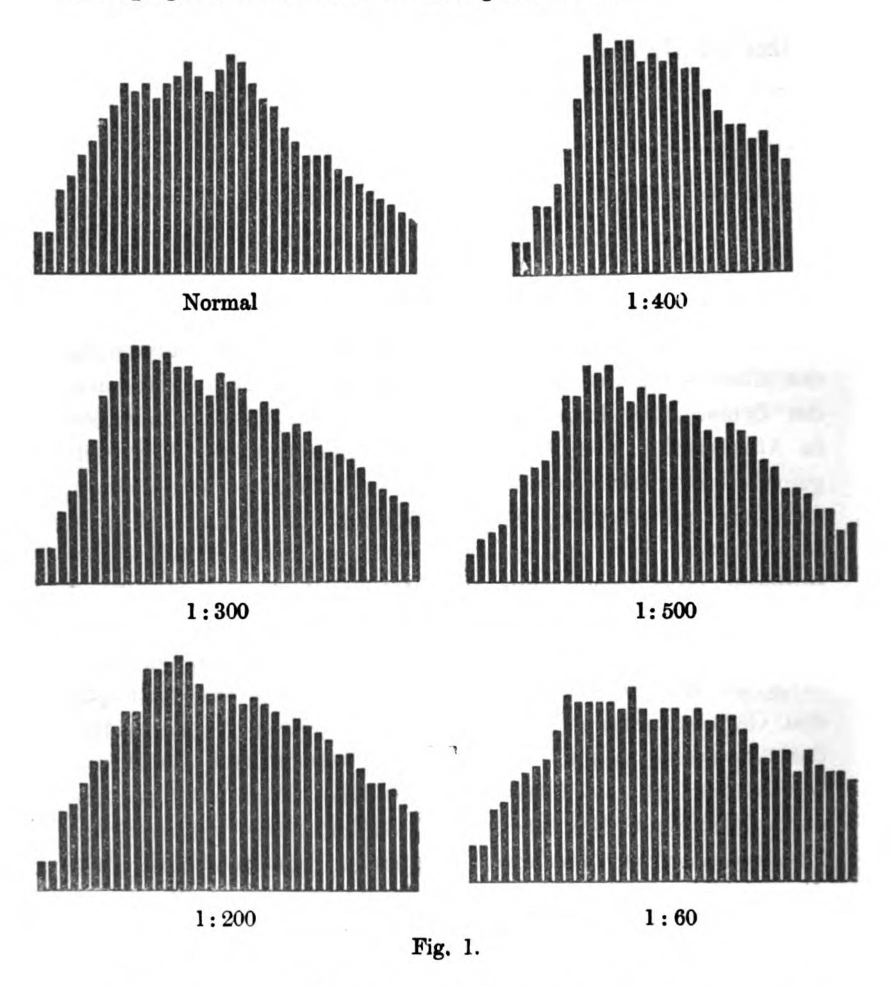


Fig. 1.

Um einen etwaigen Einfluß einer toxischen Substanz auf die Hefegärung vergleichend untersuchen zu können, sind eine Reihe derartiger Apparate nötig. Die Gärkolben werden mit einer gleichen Menge einer Traubenzuckerlösung von bestimmtem

Die Ergebnisse der vollkommen gleichsinnig verlaufenen Versuche sind durch die folgenden Protokolle belegt:

Protokolle.

Versuch vom 2. 5. 08.

Apparat Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Alkohol	0	1:60	1:70	1:80	1:90	1:100	1:200	1:300	1:400	1:500
2 Std.	0,6	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4
4 „	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,6
6 „	1,2	1,0	0,7	0,9	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	0,7
8 „	1,4	1,1	0,9	1,1	1,1	1,3	1,2	1,3	1,0	0,8
10 „	1,7	1,4	1,2	1,3	1,3	1,4	1,5	1,6	1,3	1,3
12 „	1,9	1,5	1,4	1,7	1,5	1,3	1,8	2,0	1,8	1,5
14 „	2,2	1,6	1,4	1,8	1,7	1,6	1,8	2,6	2,5	1,6
16 „	2,4	1,7	1,7	2,4	2,4	1,7	2,3	2,8	3,1	1,7
18 „	2,7	2,1	1,9	2,6	2,6	1,9	2,5	3,2	3,4	2,1
20 „	2,6	2,6	2,5	2,6	2,8	1,9	2,5	3,3	3,2	2,6
22 „	2,7	2,5	2,4	2,7	2,5	1,9	3,1	3,3	3,3	2,6
24 „	2,5	2,5	2,4	2,8	2,2	2,1	3,1	3,1	3,3	3,1
26 „	2,7	2,5	2,4	2,8	2,4	2,2	3,2	3,2	3,0	2,9
28 „	2,8	2,5	2,3	2,8	2,7	2,4	3,3	3,0	3,1	3,0
30 „	3,0	2,4	2,4	2,7	2,7	2,2	3,2	3,0	3,0	2,7
32 „	2,8	2,7	2,4	2,7	2,6	2,3	2,9	2,8	3,1	2,5
34 „	2,6	2,4	2,3	2,7	2,8	2,5	2,8	2,6	2,9	2,7
36 „	2,9	2,2	2,3	2,6	2,8	2,4	2,8	2,9	2,9	2,6
38 „	3,1	2,4	2,2	2,7	2,4	2,3	2,8	2,8	2,6	2,6
40 „	3,0	2,4	2,3	2,4	2,2	2,4	2,6	2,7	2,3	2,5
42 „	2,7	2,3	2,1	2,4	1,7	2,4	2,7	2,4	2,1	2,3
44 „	2,5	2,4	2,1	2,3	1,8	2,3	2,6	2,5	2,1	2,3
46 „	2,4	2,2	2,1	2,3	2,1	2,1	2,5	2,4	1,9	2,1
48 „	2,1	2,3	2,0	2,3	2,0	2,1	2,3	2,1	2,0	2,0
50 „	1,9	2,3	2,0	2,2	2,0	2,4	2,4	2,2	1,8	2,2
52 „	1,7	2,1	2,0	2,2	1,9	2,2	2,3	2,1	1,6	2,1
54 „	1,7	1,5	1,9	2,2	1,9	2,0	2,2	1,9	Apparat in Unordnung geraten	2,0
56 „	1,7	1,7	1,8	2,1	1,7	1,8	2,1	1,8		1,7
58 „	1,5	1,8	1,8	2,0	1,6	1,7	1,9	1,8		1,6
60 „	1,4	1,8	1,7	1,8	1,7	1,7	1,9	1,7		1,3
62 „	1,3	1,5	1,6	1,8	1,5	1,8	1,7	1,6		1,3
64 „	1,2	1,8	1,5	1,7	1,5	1,7	1,5	1,4		1,2
66 „	1,1	1,6	1,6	1,6	1,4	1,5	1,5	1,3		1,0
68 „	1,0	1,5	1,4	1,4	1,3	1,4	1,4	1,2		1,0
70 „	0,9	1,5	1,3	1,3	1,3	1,6	1,2	1,1		0,7
72 „	0,8	1,4	1,3	1,3	1,2	1,3	1,1	0,9		0,8

Die Zahlen bedeuten die in je 2 Stunden produzierten Kohlensäuremengen, wobei der Manometerinhalt als Einheit angenommen wurde.
Das Optimum wurde bei Nr. 1 nach 38 Stunden erreicht,
„ „ 2, 3, 4, 5 und 6 wird die normale Höhe überhaupt nicht,
„ „ 7 schon nach 28 Stunden,
„ „ 8 nach 20 Stunden,
„ „ 9 „ 18 „
und „ „ 10 erst wieder nach 24 Stunden erreicht.

Gehalt und einer gleichen Quantität einer nicht zu dicken Hefeaufschwemmung (20 g Hefe auf 100 ccm Flüssigkeit) beschickt. Zu einem Teil dieser Ansätze wird Alkohol in steigender Menge zugesetzt, ein anderer Teil erfährt keinen Zusatz und dient zur Kontrolle und zum Vergleich. Da alle Kolben bei konstanter Temperatur bleiben und auch sonst dauernd unter denselben Verhältnissen sich befinden, so ist eine Ablesung des barometrischen Druckes nicht nötig, vielmehr sind die von dem gleichmäßig fortlaufenden Papier abgelesenen Resultate ohne weiteres miteinander vergleichbar, da alle Apparate durch ein besonderes Eichungsverfahren auf einen gleichen Rauminhalt gebracht worden waren.

Aus diesen Protokollen und der beigefügten Kurve geht mit Sicherheit die Tatsache hervor, daß der Äthylalkohol die Hefegärung nicht nur in schädlichem Sinne, sondern bei passender Dosierung auch befördernd beeinflussen kann.[1]) Die Konzentrationen des Äthylalkohols, welche die günstige Wirkung hervorzurufen imstande sind, schwanken natürlich etwas, je nach der Menge der zum Versuch verwandten Hefe. Das Optimum der Wirkung liegt im allgemeinen bei einer Konzentration von 1:300 bis 500. Der Einfluß macht sich in der Weise geltend, daß der Höhepunkt der Gärung früher eintritt als bei den Kontrollen, welche keinen Alkoholzusatz aufweisen. Auch die Größe der Gärung, d. h. die Menge der in 2 Stunden produzierten Kohlensäure — und selbstverständlich auch des Alkohols — scheint um ein geringes höher zu sein. Es ist

[1]) Thibaut (Einfluß der alkoholischen Gärungsprodukte auf Hefe und Gärverlauf. Centralbl. f. Bakt. 2, 742, 1902) konnte schon nachweisen, daß die Gesamtheit der Endprodukte in kleinen Mengen einen günstigen Einfluß auf den Gärvorgang auszuüben vermag.

Versuch vom 21. 5. 08.

Apparat Nr.	1	2	3	4	5	6	7
	Normal	1:90	1:100	1:200	1:300	1:400	1:500
2 Std.	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5
4 „	0,8	0,6	0,7	0,9	0,8	0,8	0,8
6 „	1,5	1,2	1,4	1,5	1,5	0,8	1,4
8 „	2,0	1,5	1,5	2,0	1,8	2,2	1,7
10 „	2,2	2,0	1,9	2,6	2,3	2,7	2,1
12 „	2,8	2,4	2,1	3,1	2,9	3,2	2,3
14 „	3,1	2,8	2,5	3,5	3,0	3,5	2,6
16 „	3,5	3,1	3,3	3,8	3,7	3,7	3,1
18 „	3,5	3,8	3,5	3,6	3,4	3,9	4,0
20 „	3,5	3,4	3,9	4,0	3,9	4,0	3,9
22 „	3,8	3,2	3,7	3,1	3,1	4,2	3,6
24 „	4,0	3,1	3,2	3,4	3,2	3,8	3,3
26 „	3,9	2,9	3,0	3,3	3,4	3,7	3,3
28 „	3,8	2,9	3,4	3,4	3,4	3,9	3,2
30 „	3,1	3,0	3,2	3,4	3,3	3,8	3,2
32 „	3,3	3,0	3,1	3,3	3,2	3,6	3,0
34 „	3,3	2,9	3,1	3,3	3,3	3,6	3,1
36 „	3,1	2,8	3,1	3,3	2,9	3,5	2,9
38 „	3,0	2,7	3,1	3,2	2,9	3,4	2,9
40 „	3,3	2,7	3,0	3,0	3,0	3,3	2,8
42 „	3,1	2,6	2,9	2,9	2,9	3,3	2,8
44 „	2,8	2,4	2,7	2,7	2,6	2,9	2,4
46 „	2,4	2,3	2,8	2,6	2,7	2,5	2,2
48 „	2,3	2,3	2,5	2,3	2,3	2,5	2,2
50 „	2,0	2,1	2,3	2,2	2,1	2,4	1,9
52 „	1,6	1,8	2,1	1,5	1,9	2,0	1,7
54 „	1,4	1,8	2,0	1,9	1,8	1,7	1,6
56 „	1,3	1,6	2,2	1,7	1,6	1,6	1,4
58 „	1,1	1,5	2,2	1,5	1,4	1,3	1,3
60 „	1,0	1,5	1,9	1,4	1,2	1,2	1,2
62 „	1,2	1,3	1,5	1,3	1,2	1,1	1,0
64 „	1,5	1,2	1,2	1,1	1,0	0,5	0,8
66 „	1,2	1,1	1,1	1,0	0,8	0,7	0,6

Das Optimum wurde erreicht

bei Nr. 1 nach 24 Std. mit 4,0,
„ „ 2 „ 18 „ „ 3,8,
„ „ 3 „ 20 „ „ 3,9,
„ „ 4 „ 20 „ „ 4,0,
„ „ 5 „ 20 „ „ 3,9,
„ „ 6 „ 20 bis 22 Std. mit 4,0 und 4,2,
„ „ 7 „ 18 Std. mit 4,0.

Zwei andere Versuche verliefen ebenso wie die vorstehenden.

also durch den anfänglichen Alkoholzusatz die fermentative Spaltung beschleunigt worden, indem das Optimum zeitlich nach vorn verschoben wurde. Anders ausgedrückt bedeutet dies: Durch den künstlich zugefügten Alkohol ist das früher erreicht worden, was normalerweise sonst erst später einzutreten pflegt.

Wir ersehen daraus, daß das Stoffwechselprodukt der fermentativen Tätigkeit der Bierhefe diese anzuregen vermag und daß diese Wirkung auch normalerweise offenbar eine Rolle bei der Gärung spielt.

Es deckt dies sich mit den Beobachtungen, die man auch sonst in der Natur im allgemeinen und im tierischen Organismus im besondern zu sehen gewohnt ist. Es mag da nur an einen sehr bekannten Vorgang erinnert werden, an die Atmung. Trotz mancher in neuester Zeit verfochtenen gegenteiligen Ansichten darf wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß der erste Atemzug der höheren Tiere zu einem großen Teil durch die Überladung des Blutes mit Kohlensäure, einem Stoffwechselprodukte des Organismus, seine Entstehung verdankt und die Atmung durch diesen Reiz fernerhin auch unterhalten wird. Andere Beispiele sind unter vielen die Anregung der Nierensekretion durch die harnfähigen Substanzen und das Größerwerden des Herzschlages unter Einfluß geeigneter Mengen von Harnstoff.

Es verlohnt sich wohl, noch mit einigen Worten auf die Mengen einzugehen, welche den beschleunigenden Einfluß des Alkohols auf den Gärungsprozeß hervorbringen. Die günstigste Wirkung entfalten die Konzentrationen von 1 : 300 bis 500. Man könnte glauben, daß dies außerordentlich geringe Quantitäten seien. Bei näherer Betrachtung muß man aber zu der Überzeugung gelangen, daß dem keineswegs so ist, besonders wenn sie mit den Mengen verglichen werden, die beim Menschen zur Anwendung gelangen. Wenn die Organe des Menschen von einer Alkohollösung 1 : 400 umspült werden sollten, so müßten bei einer Gesamtblutmenge von 5200 ccm Blut (gleich 7,4 % des Körpergewichts von 70 kg) 13 ccm Alcohol absolutus dauernd im Blute kreisen. Legt man aber dieser Rechnung die Gesamtflüssigkeitsmenge des Organismus, die nach Munck 64 % des Körpergewichts beträgt, zugrunde, so müßten 112 ccm Alcohol

absolutus in dem Wasseranteil des menschlichen Organismus vorhanden sein. Das würden schon ganz erhebliche Mengen bedeuten, die sicher einen toxischen Effekt auslösen müßten, besonders dann, wenn wie bei den Versuchen mit der Hefe, eine Ausscheidung der wirksamen Substanz unmöglich gemacht würde. Es ist ja selbstverständlich, daß die Hefepilze nicht ohne weiteres mit dem Organismus des Menschen verglichen werden können. Jedoch mußte ich eine solche Berechnung anstellen, um die Größe der Alkoholdosis in das rechte Licht zu setzen.

Wenn man versucht, den feineren Mechanismus der günstigen Alkoholwirkung zu erklären, so sind zwei Möglichkeiten vorhanden. Einmal kann die beobachtete Erscheinung dadurch zustande gekommen sein, daß der Alkohol die Tätigkeit des Fermentes, der Zymase, erhöht oder beschleunigt, oder daß er die Produktion der Zymase angeregt hat, d. h. die Lebenstätigkeit der lebenden Hefezelle erhöht oder beschleunigt hat. Wir wissen durch die Untersuchungen verschiedener Autoren, unter anderen Fujitani[1]), daß der Alkohol auf die Fermente selbst einen günstigen Einfluß nicht auszuüben scheint. Man müßte deshalb annehmen, daß die Produktion der Fermente eine Zunahme erfahren habe, daß also die Tätigkeit der Hefezellen durch das eigene Stoffwechselprodukt angeregt wurde.

Daß der Alkohol in höherer Konzentration einen verlangsamenden Einfluß auf die Hefegärung ausübt, ist selbstverständlich und auch schon von Kühl[2]) gezeigt worden. Diese schädliche Wirkung gibt sich in unseren Versuchen dadurch zu erkennen, daß die Menge der produzierten Kohlensäure eine geringere ist als in den zugehörigen Kontrollversuchen. Aber auch in diesen Versuchen, welche die schädliche Wirkung des Äthylalkohols offenbaren, läßt sich feststellen, daß es anfangs eine Periode gibt, in der der Alkohol in einer die Gärung befördernden Konzentration vorhanden ist. Durch die weitere Auf-

---

[1]) J. Fujitani, Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf die künstliche Magenverdauung. Arch. int. de Pharmacodyn. et de Thérap. 14, 1, 1905.

[2]) H. Kühl, Die alkoholische Gärung durch Hefe. Apoth.-Zeitg. 22, 728, 1907.

spaltung des Zuckers werden aber bald Konzentrationen erreicht, die eine definitive Schädigung erzeugen.

In wenige Sätze zusammengefaßt haben die vorliegenden Versuche folgendes ergeben:

1. Mit Hilfe des von H. Schulz angegebenen Gärungsapparates ist es möglich, den Einfluß des Alkohols auf die Hefegärung graphisch zu registrieren.

2. Konzentrationen von 1 : 300 bis 500 bedingen einen schnelleren Anstieg der Gärungskurve, was eine Beschleunigung der Kohlensäure- und Alkoholproduktion bedeutet.

3. Diese günstige Einwirkung des Alkohols auf die Hefegärung ist ein physiologischer Vorgang, indem hierbei, wie auch in vielen andern Fällen, das Stoffwechselprodukt einen erregenden Einfluß auf die Tätigkeit des Organismus ausübt, was vom biologischen Standpunkt allgemeineres Interesse verdient.

4. Die erregende Einwirkung des Alkohols auf die fermentative Tätigkeit der Bierhefe ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Beschleunigung der Fermentproduktion zu beziehen, und dürfte kaum auf eine Beeinflussung der Zymase selbst zurückzuführen sein.

5. Größere Alkoholkonzentrationen üben auf die fermentative Spaltung von Zuckerlösungen in Alkohol und Kohlensäure schließlich eine verlangsamende und hemmende Wirkung aus, wenn auch anfänglich der anregende Einfluß auf die Zelltätigkeit noch erkannt werden kann.

Über die gepaarten Phosphorsäuren in Pflanzensamen.

Von

P. A. Levene.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research in New York.)

(Eingegangen am 22. Dezember 1908.)

Vor einigen Jahren[1]) hatte ich Gelegenheit, die phosphorhaltige Substanz, welche von Palladin[2]) entdeckt und zu jener Zeit von Schulze und Winterstein[3]) analysiert war, einer Analyse zu unterwerfen. In meiner Mitteilung über Glucophosphorsäure ist über die Resultate kurz berichtet worden. Gleichzeitig mit meiner Arbeit ist die von Posternack[4]) in den Compt. rend. erschienen. Die erste Mitteilung von Posternack war mir zu jener Zeit unbekannt. In meiner Mitteilung über die Glucophosphorsäure waren Beweise für die Anwesenheit einer Kohlenhydratgruppe im Moleküle dieser Substanz angegeben. Das Verfahren, nach welchem meine Substanz dargestellt war, wich von dem von Posternack etwas ab; ich beabsichtigte deshalb seit Jahren, auf diesen Gegenstand zurückzukommen; doch war meine Zeit durch andere Arbeiten so in Anspruch genommen, daß ich nicht wieder dazu kam. Unterdessen sind einige andere Arbeiten über die Zusammensetzung dieser Substanz veröffentlicht, welche die Angaben von Posternack bestätigten, und schließlich erschienen die Arbeiten von Neuberg[5]) und Suzucki, Yoshimura und Takaishi, welche eine Änderung in der Ansicht über die Natur des Phytins nötig machten,

---

[1]) Journ. Am. Chem. Soc. 24, 1901, 1902. (Eingegangen Nov. 1901.)
[2]) Palladin, Zeitschr. f. Biol. 31, 199, 1904.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 90, 1896.
[4]) Compt. rend. 137, 3, 5, 18, 1903.
[5]) Diese Zeitschr. 9, 557, 1908.

und zwar insofern, weil sie die Anwesenheit einer präformierten Zyklose im Moleküle der Substanz zeigten. Für die Richtigkeit seiner Ansicht hat Herr Prof. Neuberg mir freundlichst noch weitere Beweise in einer privaten Mitteilung angegeben. Die elementare Zusammensetzung meiner Substanz besaß mit der von Schulze und Winterstein und mit der Rohsubstanz von Patten und Hart[1]) deutliche Ähnlichkeit, und doch enthielt meine Verbindung eine ganz bedeutende Menge eines Kohlenhydrates. Auch wenn ich genau nach den Vorschriften von Posternack verfuhr, erhielt ich Substanzen, die meiner älteren ähnlich waren. Es lag nun die Möglichkeit nahe, daß mein Körper aus einem Gemisch mehrerer phosphorhaltiger Substanzen bestand. Diese Ansicht erwies sich auch als richtig, da es gelang, aus dem Rohmaterial zwei Substanzen zu erhalten, die eine mit kaum Spuren von Inosit und viel Kohlenhydrat, die andere scheinbar ganz ohne Kohlenhydrat im Moleküle. Auch aus dem käuflichen Phytin (aus der Fabrik in Basel bezogen) war es möglich, beide Substanzen zu erhalten. Die Trennung beruht auf der verschiedenen Löslichkeit der Substanzen in Eisessig. Die elementare Zusammensetzung der beiden Substanzen ist ziemlich ähnlich. Die Kohlenhydrat enthaltende Substanz gewinnt an Interesse noch dadurch, daß das Kohlenhydrat scheinbar zur Gruppe der Glucuronsäure gehört, und meines Wissens nach sind diese Substanzen im Pflanzenreich noch nicht gefunden worden. Über die Natur des Zuckers werde ich später eingehender berichten.

Experimenteller Teil.

Darstellung und Zusammensetzung der Substanz.

Es sei hier zuerst das ältere Verfahren erwähnt, nach welchem ich die ursprüngliche Substanz erhielt, und dann das neuere mitgeteilt, durch welches die Trennung der zweiten Substanz erreicht war.

Hanfsamenmehl wurde in $5^{0}/_{0}$iger Kochsalzlösung aufgekocht und filtriert. Die durch Kochen nicht koagulierten Proteine werden durch Essigsäure und Pikrinsäure entfernt, das Filtrat vom Pikratniederschlag wurde mit Natronlauge

[1]) Am. Chem. Journ. 31, 564, 1904.

bis zur ganz schwach sauren Reaktion neutralisiert und mit Kupferchlorid gefällt. Es bildete sich das Kupfersalz des Phytins. Da es aber noch Spuren von Eiweiß enthielt, so wurde das Kupfersalz mit überschüssiger Lauge und Alkohol nach dem Verfahren von Schmiedeberg so lange behandelt, bis alle Spuren von Biuret gebenden Substanzen entfernt waren. Das Kupfersalz wurde dann vom Kupfer durch wiederholtes Auflösen in Salzsäure und Fällen mit Alkohol befreit. Die Substanz besaß die Eigenschaften einer gepaarten Phosphorsäure, gab mit Orcin und Salzsäure eine positive Farbenprobe, nach der Hydrolyse mit Mineralsäure reduzierte die Verbindung Fehlingsche Lösung. Die Lösung der Substanz ist linksdrehend.

Die Substanz selbst hatte die folgende Zusammensetzung:

0,0957 g der Substanz gaben 0,0661 g CO_2 und 0,0319 g H_2O
0,1305 g „ „ „ 0,0617 g $Mg_2P_2O_7$
0,1017 g „ „ „ 0,0517 g Asche.

Die Substanz von

	Schulze u. Winterstein[1]) enthielt:	Patten u. Hart[2]) enthielt:	Die vorliegende Substanz enthielt:
C . .	9,65	17,30	17,94
H . .	2,83	3,63	3,57
P . .	34,66	16,38	13,16
Asche .	67,88	(CaMgK) = 9,53	50,83 (inkl. P.)

Hydrolyse der Substanz mittels 1%iger Salzsäure.

10,0 g der Substanz wurden mit 500 ccm einer 1%igen Salzsäurelösung 6 Stunden lang im Ölbade am Rückflußkühler auf 125° C erhitzt. Die Flüssigkeit wurde genau neutralisiert und auf ein kleines Volumen eingedampft. In einer Probe wurde die Menge des Kohlenhydrates mittels Fehlingscher Lösung bestimmt. Das Kupferhydrat wurde titrimetrisch mit Kaliumcyanat bestimmt. Die Menge des Kohlenhydrates ließ sich auf etwa 25% des organischen Teiles berechnen.

Die Hauptlösung wurde dann mit 2,0 g Phenylhydrazin, gelöst in Essigsäure, erhitzt. Es bildete sich dabei Osazon. Aber auch nach zweimaligem Umkrystallisieren war die Substanz

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 90, 1896.
[2]) Am. Chem. Journ. 31, 566, 1904.

nicht ganz rein. Das Osazon begann bei 165° C zu sintern und schmolz bei 170° C.

0,0739 g des Osazons gaben bei der Verbrennung 0,1620 g CO_2 und 0,0430 g H_2O.

Für $C_{18}H_{22}N_4O_4$	berechnet:	gefunden:
C . . .	60,16	59,81
H . .	6,11	6,46

Es lag also keine Pentose vor. Davon konnte man sich auch durch eine Furfurolbestimmung überzeugen.

0,3510 g der Substanz gaben bei der Destillation mittels Salzsäure (1,06 spez. Gew.) 0,0247 g Furfurolphloroglucid. Wäre die Kohlenhydratgruppe eine Pentose gewesen, so müßte man viel mehr Phloroglucid erwarten.

Nun wurde versucht, die Substanz nach den Angaben von Posternack darzustellen. Das nach diesem Verfahren erhaltene Kupfersalz wurde von Kupfer mittels Schwefelwasserstoff befreit, aber dann wurde die Lösung, statt bei vermindertem Drucke eingedampft, mittels Alkohol gefällt. Auf diese Weise wurde die Säure aus Pfeffer- und Senfsamen gewonnen. Aus beiden Präparaten konnte nach der Hydrolyse dasselbe Osazon erhalten werden. Beide Präparate gaben die Farbenreaktion eines Kohlenhydrates und unterschieden sich nicht wesentlich von dem nach meinem Verfahren dargestellten Präparate.

Zur weiteren Reinigung wurde dann versucht, die Substanz in das Bariumsalz überzuführen. Zu diesem Zwecke löste man sie in verdünnter Salzsäure und fällte mit einer konzentrierten Lösung von Bariumacetat.

Der Niederschlag wurde wieder in Salzsäure gelöst und mit Bariumacetat gefällt, dann in Eisessig aufgenommen, in welchem er sich anfangs teilweise löste, und über Nacht im Kälteraum bei —1° C stehen gelassen. Der Niederschlag nahm dann ein halb krystallinisches Aussehen an und bestand mikroskopisch aus Globuliten, die scheinbar aus kleinen Nadeln zusammengesetzt waren. Der Niederschlag wurde auf einer Saugpumpe über Seide filtriert und zunächst an der Luft bis zum konstanten Gewicht und zur Analyse bei 80° C im Vakuumexsiccator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Die Analyse dieses Präparates ergab die folgenden Zahlen:

0,3555 g der Substanz gaben 0,0998 g CO_2 und 0,0582 g H_2O
0,4283 g „ „ „ 0,1838 g MgP_2O_7
0,3343 g „ „ „ 0,2285 g $BaSO_4$
0,2987 g „ „ enthielten 0,2465 g Asche = 82,52 %.

Berechnet für das Bariumsalz des Phytins:		Gefunden:
C . .	5,17	7,7
H . .	1,04	1,81
P . .	14,94	11,95
Ba . .	44,02	40,14
Asche (als $Ba_2P_2O_7$)		82,52.

Die Substanz gab keine Farbenreaktion auf Stärke, aber eine positive Pentosenprobe mit Orcin, und positiv war die Probe von Tollens mit Naphtoresorcin auf Glucuronsäure. Nach der Hydrolyse mit Mineralsäuren reduzierte sie Fehlingsche Lösung.

20 g der Substanz wurden zur quantitativen Bestimmung des Reduktionsvermögens mit 2 % Schwefelsäure 4 Stunden im Ölbade am Rückflußkühler erhitzt. Nach Entfernung des Bariums erhielt man 80,0 ccm Lösung, von welcher 2,0 ccm bei der Reduktion mit Fehlingscher Lösung 0,0085 g Kupferoxydul lieferten. Das Kupferoxydul wurde maßanalytisch mittels Kaliumcyanat bestimmt. Die Ausbeute berechnet sich auf etwa 8 % Zucker.

1,5646 g der Substanz wurden zur Furfuroldestillation gebraucht. Die Ausbeute an Phorglucid betrug 0,0946 g.

4,0 g der Substanz dienten zur Inositbestimmung. Zu diesem Zwecke wurden sie in zugeschmolzenem Rohre 4 Stunden lang im Ölbade auf 150° C erhitzt. Die abgekühlte, dunkelbraune Lösung wurde quantitativ vom Barium befreit, eingedampft, mit Alkohol bis zur Entstehung einer Trübung versetzt und über Nacht stehen gelassen. Es bildete sich ein ganz kleiner Niederschlag von typischen Inositkrystallen. Sie gaben eine positive Scherersche Reaktion. Die Ausbeute betrug 0,650 g.

Die vorliegende Substanz wich in ihrer Zusammensetzung vom Phytin nicht viel ab, doch enthielt sie eine ganz beträchtliche Menge eines Kohlenhydrates.

Nun ergab sich weiter, daß man das Bariumsalz mittels Eisessig in zwei Substanzen trennen konnte. Zu diesem Zwecke

löst man das Bariumsalz in möglichst wenig verdünnter Essigsäure oder Salzsäure. Falls man Salzsäure zum Lösen gebraucht, tut man besser, wenn man bis zur Bindung der freien Mineralsäure mit Bariumacetat versetzt. Zu der Lösung der Bariumsalze wird Eisessig so lange gesetzt, als ein Niederschlag entsteht. Der Niederschlag ist die Kohlenhydrat enthaltende Substanz, das Filtrat enthält das Phytin. Dieses wird aus der Lösung mittels Alkohol gefällt. Wird die Operation einige Male wiederholt, so gelangt man zu einer Substanz, welche zuckerfrei ist. Die Analyse eines solchen Präparates ergab die folgenden Zahlen:

0,2714 g der Substanz gaben 0,0564 g CO_2 und 0,0434 g H_2O
0,5630 g „ „ „ 0,2727 g $Mg_2P_2O_7$
0,3215 g „ „ „ 0,2460 g $BaSO_4$
0,2282 g „ „ „ 0,1858 g Asche.

Das Bariumsalz des Phytins hat nach der Neubergschen Formulierung die Zusammensetzung $C_6H_{18}O_{27}P_6Ba_4$ und würde verlangen:

	verlangen	Gefunden ist:
C . .	5,77	5,66
H . .	1,04	1,47
P . .	14,94	13,93
Ba . .	44,02	44,48
Asche		81,42.

5,0 g der Substanz wurden in einem geschlossenen Rohre mit 25 ccm 25%iger Schwefelsäure 4 Stunden im Ölbade auf 150° C erhitzt. Es resultierte eine ganz farblose Flüssigkeit. Diese wurde von Schwefelsäure quantitativ befreit und bei vermindertem Drucke eingedampft, mit Alkohol bis zum Entstehen einer Trübung versetzt und im Kälteraum bei —1° C stehen gelassen. Es schieden sich die typischen Krystalle des Inosits aus. Die Ausbeute betrug 0,5 g. 0,1373 g der Substanz gaben 0,2000 g CO_2 und 0,0832 g H_2O.

Für $C_6H_{12}O_6$	berechnet:	gefunden:
C . .	40,10	39,58
H . .	6,66	6,73.

Auch aus dem käuflichen Phytin läßt sich mittels Eisessig die kohlenhydrathaltige, gepaarte Phosphorsäure ebenfalls erhalten. Zwei solcher Präparate wurden dargestellt, und zwar

auf folgendem Wege: Wie bekannt, enthält das käufliche Produkt viel Calcium und Magnesium. Um diese zu entfernen, wurde versucht, das käufliche Phytin in das Bariumsalz umzuwandeln. Da das Produkt immer noch viel Calcium und Magnesium enthielt, so wurde es zuerst vom Barium mittels Schwefelsäure quantitativ befreit, dann vom Calcium mittels Oxalsäure und das Filtrat vom Caliumoxalat mittels Eisessig gefällt. Der Niederschlag wurde wieder aufgelöst und die Reinigung mittels Oxalsäure wiederholt, das Filtrat auch dieses Mal mit Eisessig gefällt. Der Niederschlag wurde dann an der Saugpumpe über Seide filtriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Er gab eine stark positive Orcinprobe, eine stark ausgesprochene Probe von Tollens auf Glucuronsäure mit Naphtoresorcin.

Nach der Hydrolyse mittels Mineralsäuren reduzierte er Fehlingsche Lösung.

0,4170 g der Substanz gaben 0,3351 g $Mg_2P_2O_7$, $P = 22,36\ \%$
0,1885 g „ „ „ 0,0687 g CO_2 und 0,0586 H_2O
$C = 9,84\ \%$, $H = 3,48\ \%$.

Das zweite Präparat wurde gleich von vornherein mit Oxalsäure gereinigt und mit Eisessig gefällt. Nach mehrmaligem Wiederholen dieser Operation erhielt man eine Substanz, die nach der Hydrolyse mit Mineralsäuren Fehlingsche Lösung stark reduzierte und starke Orcinprobe gab, auch die Naphtoresorcinprobe von Tollens auf Glucuronsäure.

0,3315 g dieser Substanz gaben 0,2742 g $Mg_2P_2O_7$, $P = 23\ \%$.

	C	H	P
Phytin nach Posternak und Neuberg verlangt	10,08	3,36	26,07
Die vorliegenden Substanzen enthielten 1.	9,84	3,48	22,36
2.	—	—	23,00

Also auch diese Substanzen wichen wenig in ihrer Zusammensetzung vom Phytin ab, und doch enthielten sie eine Kohlenhydratgruppe im Molekül.

Notiz über Phytin.

Von

Carl Neuberg.

Vor einiger Zeit habe ich mitgeteilt,[1]) daß Phytin als Inositphosphorsäure und nicht als ein Phosphorsäureester des Formaldehyds zu betrachten ist. Dieser Auffassung hat sich auf Grund anderer Versuche E. Winterstein[2]) angeschlossen, und die Beobachtungen von U. Suzuki, K. Yoshimura und M. Takaishi[3]) über die enzymatische Spaltung des Phytins in Phosphorsäure und Inosit haben zu demselben Ergebnis geführt.

In der voraufgehenden Mitteilung gibt nun P. A. Levene[4]) an, das Phytin in zwei Substanzen zerlegt zu haben, von denen die eine die eigentliche Inositphosphorsäure, die andere wahrscheinlich eine Glucuronsäure-Phosphorsäure, jedenfalls der linksdrehende Phosphorsäureester eines wahren Kohlenhydrates sein soll.

Ich habe die Angaben von Levene an 8 verschiedenen Phytinpräparaten nachgeprüft, und zwar an

5 verschiedenen Proben des bekannten Calciummagnesiumsalzes,
1 Probe reinen Calciumsalzes,
1 Probe Natriumsalz und an
1 Probe freier Phytinsäure, die ich sämtlich der Liberalität der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel verdanke.

---

1) Diese Zeitschr. 5, 443, 1907 u. 9, 557, 1908.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 118, 1908.
3) Bull. of the College of the Agriculture Tokyo 7, 503.
4) Seite 399.

5 von den 8 Präparaten zeigten nicht einmal die Molisch-Udrańskische allgemeine Kohlenhydratreaktion, 3 gaben sie so minimal, daß eine zum Vergleich damit vorgenommene Probe mit einer Traubenzuckerlösung von 1:10000 enorm ausfiel. Bei der außerordentlichen Feinheit der Reaktion beweist bekanntlich ein solch schwacher Ausfall gar nichts. Keines der Präparate gab die Naphtoresorcinprobe auf Aldehyd- oder Ketosäuren vom Typus der Glucuronsäure. Auch nach voraufgegangener Hydrolyse mit Salzsäure oder Schwefelsäure zeigte keines der Präparate einen positiven Ausfall der genannten Reaktionen, keines eine Reduktion von Fehlingscher Lösung, keines wies vor[1]) oder nach der Spaltung optische Aktivität auf.

Demnach kann von der Gegenwart einer Kohlenhydratphosphorsäure im Phytin, das nach der ausgezeichneten Methode von M. S. Posternak[2]) gewonnen ist, nicht gut die Rede sein.

Es entzieht sich natürlich ohne eingehende Nachprüfung der Beurteilung, was Levene eigentlich in Händen gehabt hat. Am wahrscheinlichsten ist die Annahme, daß sein von Posternaks bewährten Angaben abweichendes Verfahren zu anderen unreineren Produkten führt.

Die Gegenwart von Glucuronsäure in den betr. Substanzen, die Levene behauptet, wäre für die Abschätzung der biologischen Rolle der Glucuronsäure nicht ohne Bedeutung. Es ist klar, daß ein so häufiges Vorkommen dieser Kohlenhydratsäure in den pflanzlichen Nahrungsmitteln zu einer Änderung unserer Anschauung über die Physiologie der Glucuronsäure führen müßte. Zwar darf es an sich schon als gewagt gelten, daß Levene den positiven Ausfall der Naphtoresorcinreaktion auf Glucuronsäure bezieht, nachdem Mandel und Neuberg[3]) gezeigt haben, daß diese Probe mit einer großen Reihe von Substanzen positiv ausfällt, deren Zahl sich übrigens noch vermehren läßt. Immerhin gibt die Reaktion einen Anhalt für

---

[1]) Die unlöslichen Calcium- und Magnesiumsalze wurden zur polarimetrischen Bestimmung in Salzsäure von 5% gelöst.

[2]) Compt. rend. 137, Nr. 3, 5 u. 8, 1903.

[3]) Diese Zeitschr. 13, 148, 1908.

das Vorhandensein von Carbonylsäuren überhaupt ab. Deshalb habe ich die Angaben von Levene, der eine solche Glucuronsäureverbindung aus Hanf-, Pfeffer- und Senfsamen erhalten haben will und die Ähnlichkeit seiner Substanz mit der von A. J. Patten und E. B. Hart[1]) aus Weizenkleie betont, nachgeprüft, und zwar zunächst mit den enteiweißten Auszügen von zwei Sorten Hanfsamen, schwarzem und weißem Pfeffer, Senfsamen, Weizenkleie und Mandelkleie. Die Naphtoresorcinprobe war hier wenigstens in allen Fällen negativ.

Wie schon Tollens[2]) angibt, erhält man Färbungen mit Naphtoresorcin und Salzsäure bei fast allen Kohlenhydraten; in Äther geht aber nur das Reaktionsprodukt aus Glucuronsäure mit roter bis blauvioletter Farbe über. Es kommt nun vor, daß von dem roten Farbstoff, den verschiedene Zucker erzeugen, beim Ausschütten etwas im Äther suspendiert und namentlich längs der Ätherschicht am Glase haften bleibt. Solche Proben sehen auf den ersten Blick wie positive aus; beim Filtrieren bemerkt man aber, daß der Ätherauszug farblos ist, und das gleiche gewahrt man, wenn die Proben einige Stunden ruhig stehen. Namentlich durch Filtration der abpipettierten Ätherschicht kann man sich vor Täuschungen schützen.

Levene ist im Irrtum, wenn er behauptet, als erster Glucuronsäure in Pflanzenprodukten aufgefunden zu haben. Abgesehen davon, daß er einen Nachweis dieser Substanz nicht erbracht hat, haben Tollens und Witsoe[3]) bereits im Jahre 1900 die Aufmerksamkeit auf ihr Vorkommen im Pflanzenreiche gelenkt, und Tschirch und Cederberg[4]) sowie Tschirch und Gauchmann[5]) haben schon im Jahre 1907 Glucuronsäure unter den Spaltungsprodukten der Glycyrrhizinsäure aus Süßhölzern beobachtet.

Deshalb soll auch keineswegs die Möglichkeit des öfteren Vorkommens von Glucuronsäure in Pflanzensubstanzen an sich bestritten werden, nur die Angaben von Levene können nicht als Beweis dafür gelten.

Übrigens ist der fragliche Kohlenhydratphosphorsäureester aus den genannten Pflanzensamen von Levene früher anders

---

[1]) Journ. of the Amer. Chem. Soc. 31, 564, 1904.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 51, 1783, 1908.
[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 142, 1909.
[4]) Arch. d. Pharm. 245, 97, 1907.
[5]) Arch. d. Pharm. 246, 545, 1908.

gedeutet worden. Im Journ. of Amer. Chem. Soc. 24, 191, 1903, gibt Levene an, nach Hydrolyse desselben typisches Glucosazon erhalten zu haben, und er hat daraufhin das natürliche Vorkommen der „Glucophosphorsäure" proklamiert.

Im Amer. Journ. of Physiol. 8, 11, 1903, wird dasselbe Kohlenhydrat aus eben dieser „Glucophosphorsäure" (!) auf Grund der Phenylhydrazin- und Bromphenylhydrazinverbindung für eine Pentose erklärt. Jetzt ist es zu Glucuronsäure avanciert, obgleich Analysen und Formel für ein Hexosazon (s. die vorherg. Mitteil. S. 402) angegeben sind!

An den beiden genannten Orten teilt Levene übrigens Analysen mit, die einen erheblichen Stickstoffgehalt seiner Substanz anzeigen. Für ein Kupfersalz gibt er z. B. (Journ. of Amer. Chem. Soc. 24, 191) an:

$$C = 16{,}95\,\%$$
$$H = 2{,}85\ „$$
$$N = 2{,}41\ „$$
$$P_2O_5 = 24{,}10\ „$$
$$CuO = 35{,}66\ „$$
$$\text{Asche} = 57{,}67\ „$$

Vergleicht man diese Daten mit den Zahlen, die ein Inositphosphorsäureester oder ein isomerer Kohlenhydratphosphorsäureester verlangt, so sieht man, daß sie weit davon abweichen.

Nachdem durch die Arbeiten von Posternak u. a. bewiesen wurde, daß Phytin stickstofffrei ist, gibt auch Levene keinen Stickstoffgehalt mehr für seine Substanzen an (siehe die vorhergehende Mitteilung), obgleich er sie aber nach demselben älteren Verfahren gewinnt, das ihn früher zu N-haltigem Material geführt hat.

Endlich ist es noch unverständlich, woraufhin Levene eigentlich eine Trennung seiner Phosphorsäureester in einen Inosit- und in einen Glucuronsäureester behauptet. Die Fraktion nämlich, die nach seinen Angaben die Kohlenhydratsäure enthalten soll, gibt bei der Spaltung noch 16,25 % Inosit (0,65 g aus 4,0 g Substanz; s. S. 403), die den wirklichen Inositester enthaltende kohlenhydratfreie Fraktion liefert dagegen 10 % Inosit (0,5 g aus 5,0 g Substanz; s. S. 404).

Zu allen diesen Widersprüchen tritt schließlich noch die Tatsache, daß für das Vorkommen irgend einer kohlenhydratähnlichen Substanz neben Inosit im Phytin überhaupt kein Platz ist; denn S. Posternak[1]) hat bereits im Jahre 1903 bewiesen, daß der gesamte Kohlenstoff des Phytins nach der Hydrolyse quantitativ als Inosit auftritt.

---

[1]) Compt. rend. 137, 439, 1903.

Das Ammoniak als Umwandlungsprodukt stickstoffhaltiger Stoffe in höheren Pflanzen.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Wl. Butkewitsch.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des Instituts für Land- und Forstwirtschaft in Novo-Alexandria.)

(Eingegangen am 4. Januar 1909.)

Mit 6 Figuren.

Die Frage nach der Ammoniakbildung bei der regressiven Metamorphose der Stickstoffverbindungen in höheren Pflanzen ist schon mehrfach in der physiologischen Literatur diskutiert worden, konnte aber wegen des mangelnden Tatsachenmaterials bis jetzt keine bestimmte Lösung erfahren.

Ehe ich die Versuche beschreibe, durch welche ich die oben aufgeworfene Frage zu beantworten bemüht war, möchte ich die zu dieser Frage führenden und ihre Bedeutung klarlegenden Erwägungen anführen.

Wenn wir uns zu den genügend untersuchten Umwandlungen der Eiweißstoffe durch niedere pflanzliche Organismen (Bakterien und Pilze) einerseits und tierische Organismen andrerseits wenden, so finden wir, insofern wir die stickstoffhaltigen Zerfallprodukte dieser Umwandlung berücksichtigen, folgendes für beide identische Schema:

$$\text{Eiweißstoffe} \begin{cases} NH_3 \\ \text{Aminosäuren} \longrightarrow NH_3 \end{cases}$$

Dieser Prozeß, welcher bei den niederen Pflanzen mit der Ammoniakbildung beendigt wird, findet bei den Tieren eine Fortsetzung in der Harnstoff- und Harnsäuresynthese, bei

welcher das Ammoniak verbraucht wird (was sein beinahe vollständiges Fehlen beim normalen tierischen Stoffwechsel erklärt).

Was die höheren Pflanzen betrifft, so war bis jetzt nur so viel bekannt, daß der Eiweißzerfall, welcher bei ihnen ebenso wie in den obenerwähnten Fällen mit einer hydrolytischen Spaltung unter Bildung der bekannten Aminosäurenkomplexe beginnt, zuletzt durch Umwandlung dieser primären Produkte zur Anhäufung von Amiden, wie Asparagin und Glutamin, führt.

Natürlicherweise entsteht nun die Frage, ob auch in diesem Falle der Bildung dieser Endprodukte das Ammoniakstadium vorangeht, welchem wir bei den tierischen und niederen pflanzlichen Organismen begegnen, oder ob die höheren Pflanzen hierin eine Ausnahme machen. Diese Frage wurde mehrmals in der Literatur berührt und ohne ausreichenden Grund von verschiedenen Autoren bald in diesem, bald in jenem Sinne beantwortet.

Die Annahme, daß der Umwandlung der aus den Eiweißkörpern entstehenden Aminosäuren in Asparagin eine von Ammoniakbildung begleitete Spaltung derselben vorausgehe, wurde von E. Schulze[1]) und später auch von anderen Autoren [z. B. Loew[2]), Prjanischnikow[3])] ausgesprochen.

„Daß im Stoffwechsel der Keimpflanzen", sagt E. Schulze in einer Arbeit von 1898, „Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe einer zur Ammoniakbildung führenden Zersetzung unterliegen können, muß für möglich erklärt werden, um so mehr als das Vorhandensein von Ammoniaksalzen in Keimpflanzen schon nachgewiesen ist."[4])

Da aber diese Annahmen durch kein entsprechendes Tatsachenmaterial gestützt werden konnten, herrschte in der Physiologie bis zuletzt die Meinung, daß in höheren Pflanzen im Gegensatz zu den Tieren und niederen Pflanzen der Eiweiß-

---

[1]) S. z. B. E. Schulze, Über den Umsatz der Eiweißstoffe in lebenden Pflanzen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 18, 1898.

[2]) O. Loew, Die chem. Energie der lebenden Zellen. 1899.

[3]) D. Prjanischnikow, Die Eiweißstoffe und ihre Umwandlungen in der Pflanze. 1899 (russisch).

[4]) E. Schulze, l. c. S. 73.

zerfall das Stadium der gewöhnlich darin anzutreffenden Amino- und Amidverbindungen nicht überschreite.

So sagt Pfeffer[1]), nachdem er darauf hingewiesen hat, daß beim Eiweißzerfall „in dem animalischen Stoffwechsel zunächst dasselbe Endprodukt (NH_3) wie in den Pilzen erzielt wird", weiter folgendes: „In den höheren Pflanzen scheint die Zertrümmerung der Proteinstoffe der Regel nach nur bis zur Bildung von Amiden usw. durchgeführt zu werden . . . (Anm.). Die Entstehung von etwas Ammoniak in Keimpflanzen ist wahrscheinlich, doch nicht sichergestellt."

Aber wenn wir auch die Anwesenheit von kleinen Ammoniakmengen in Keimpflanzen als sichergestellt betrachten wollten,[2]) so bleibt auch dann noch die Frage über seine Bildung bei den Umwandlungen der primären Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe unentschieden, da gewisse Ammoniakmengen auch bei der primären, hydrolytischen Spaltung derselben gebildet werden können.

Beim Versuch, eine Antwort auf die oben gestellte Frage zu erhalten, war es natürlich, denselben Weg einzuschlagen, den bei der Lösung analoger Fragen die tierische Physiologie eingeschlagen hatte. Dieser Weg besteht in der Feststellung zweier fundamentalen Tatsachen: 1. der Fähigkeit des von außen eingeführten Ammoniaks, sich in Harnstoff oder Harnsäure zu verwandeln, und 2. der Anhäufung von Ammoniak im Organismus in solchen Bedingungen, welche seine Verwandlung in Harnstoff oder Harnsäure ausschließen oder einschränken (Ausschaltung der Leber).

Es ist klar, daß auch in bezug auf die Pflanze die zu untersuchende Frage auf gleiche Weise zergliedert werden muß, d. h. es muß entschieden werden: 1. ob von außen der Pflanze dargebotenes Ammoniak das Material für Asparagin- (oder Glutamin-) Bildung abgeben kann, und 2. ob man durch Ausschließen oder Einschränken der Bildung dieses Amids in der Pflanze die Anhäufung von Ammoniak in derselben hervorrufen kann.

Eine Antwort auf die erste Frage geben die Arbeiten von

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, II. Aufl., 1, 460, 1897.

[2]) Siehe N. Castoro, Über das Vorkommen von Ammoniak in Keimpflanzen usw. Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 525, 1907.

Kinoshita[1]) und Suzuki[2]). Beide Verfasser kommen auf Grund zahlreicher Versuche zu dem Schlusse, daß von außen dargebotenes Ammoniak sich in den Pflanzen in Gegenwart einer genügenden Menge von Kohlenhydraten in Asparagin verwandelt. Bei dieser Bedingung, d. h. bei genügenden Kohlenhydratmengen, welche sich schon in den zum Versuch benutzten Pflanzen befanden oder denselben von außen dargeboten wurden, verschwand das von demselben aus der Lösung aufgenommene Ammoniak sehr rasch in ihren Geweben, so daß es qualitativ nicht nachzuweisen war, und gleichzeitig nahm die Menge des Asparagins zu; letzteres wurde nach Sachsse bestimmt und in einigen Fällen auch als solches in Krystallen ausgeschieden.

Was die zweite der von uns oben aufgestellten Fragen anbetrifft, so haben wir zurzeit keinerlei Tatsachen, welche uns eine Lösung derselben in diesem oder jenem Sinne ermöglichen könnten.

Bei meinem Versuch, solche Tatsachen zu erhalten, griff ich zu einem Verfahren, welchem ein noch von Claude Bernard in seinen „Leçons sur les phénomènes de la vie“[3]) geäußerter Gedanke zugrunde lag. Dieser Gedanke bestand darin, daß durch Einwirkung gewisser Stoffe auf den Organismus die darin vorgehenden Prozesse differenziert werden können, d. h. einige von denselben sistiert werden, während andere ungestört weiter ablaufen. So besteht nach Cl. Bernard die Wirkung der Anaesthetica auf den Stoffwechsel im Organismus darin, daß ohne irgendwelche Beeinträchtigungen der Reaktionen der regressiven Metamorphose die organisierenden, synthetischen Prozesse eine Hemmung erfahren.[4])

---

[1]) J. Kinoshita, On the assimilation of nitrogen from nitrates and ammonium salts. Bull. of the Coll. of Agric. Imp. University, Tokyo, 2, 200, 1895; ref. in Jahresber. f. Agrikulturchemie N. F. 18, 187, 1896. — S. auch O. Loew, Das Asparagin in pflanzenchemischer Beziehung, Chem.-Zeitg. 1896, 143.

[2]) N. Suzuki, Bull. of the Coll. of Agric., Imp. Univ. Tokyo 2, 409, 1897; ref. in Jahresber. f. Agrikulturchemie N. F. 20, 281, 1898 und Biederm. Centralbl. 1898, 789: Über die Bildung von Asparagin unter verschiedenen Bedingungen.

[3]) Cl. Bernard, Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux 1, 272, 1878.

[4]) Dieser Gedanke Cl. Bernards kann gegenwärtig natürlich nur mit einer gewissen Einschränkung angenommen werden.

Es entstand natürlicherweise der Gedanke, eine derartige einseitige Einwirkung als Mittel für die Auslösung der regressiv verlaufenden Reaktionen aus der Menge der sie im normal funktionierenden Organismus verdeckenden synthetischen Prozesse zu gebrauchen und somit der Frage nach der Bildung des Ammoniaks als eines der Endprodukte des in höheren Pflanzen stattfindenden Stickstoffumsatzes näher zu rücken. Wenn die Annahme Schulzes und anderer Autoren über die der Asparaginbildung vorausgehende Spaltung der primären Zerfallprodukte der Eiweißstoffe bis zum Ammoniak ein der Wirklichkeit entsprechendes Bild der in der Pflanze stattfindenden Prozesse gibt, so könnte man in Keimlingen, welche der Einwirkung gewisser, die Synthese des Asparagins hemmender Stoffe ausgesetzt sind, eine Ansammlung von Ammoniak erwarten. Als für diesen Zweck geeignete Stoffe wählte ich in erster Linie Anaesthetica.

Als ich meine Versuche im Jahre 1902 begann, waren einige Angaben über die Wirkung der Anaesthesie auf den Eiweißumsatz in keimenden Pflanzen in der Arbeit von Soave vorhanden.[1]) Indem dieser Verf. Keimlinge verschiedener Pflanzen in Äther- oder Chloroformatmosphäre brachte, fand er, daß die weitere Entwicklung der Keimlinge vollkommen gehemmt wurde, die Atmung und der Eiweißzerfall dagegen beinahe mit derselben Energie wie in normal sich entwickelnden Keimlingen fortdauerten. Doch ist in der Arbeit von Soave die uns beschäftigende Frage nicht berührt, und über die Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Produkte in den anästhesierten Pflanzen macht er gar keine Angaben.[2])

---

[1]) Marco Soave, Contributo allo studio della funzione fisiologica dei fermenti o chimici enzimi nella vita della pianta. Ricerche chimico-fisiologiche sulla germinazione dei semi sotto l'azione degli anestetici. Le stazione sperimentali agrarie italiane 32, fasc. 6, 553, 1899.

[2]) Zaleski (W. Zaleski, Zur Ätherwirkung auf die Stoffumwandlung in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 18, 292, 1900) fand bei seinen Unternehmungen über die Wirkung der Ätheranästhesie auf den Stickstoffumsatz in Lupinen- und Weizenkeimlingen, daß die Anästhesie die Energie der Eiweißbildung förderte. Der scheinbare Widerspruch dieser Angaben mit den obenerwähnten Soaves erklärt sich wahrscheinlich dadurch, daß Zaleski eine verhältnismäßig schwache und kurzandauernde Anästhesie anwandte. Daß die Wirkung desselben auf den

Beim Beginn meiner Versuche wollte ich zuerst ebenfalls Chloroform und Äther benutzen. Aber einige vorläufige Versuche bewogen mich, diese Absicht aufzugeben und das Toluol zu wählen.[1])

Versuche mit Toluol.[2])

Der zu meinen Versuchen benutzte Apparat (Fig. 1) war demjenigen von Cl. Bernard in seinen Versuchen angewandten ähnlich konstruiert.[3]) Die zum Versuch benutzten Keimlinge wurden in den oberen Teil des Zylinders *a* gelegt, dessen Boden mit einer Wasser- und Toluolschicht bedeckt war. Die durch den Zylinder durchgeleitete Luft strich vorher durch das Gefäß *b*, welches ebenfalls Wasser und Toluol enthielt, und dann durch die obenerwähnte Schicht von Wasser und Toluol im Zylinder *a*. Die in das Gefäß *b* einströmende Luft wurde vorher durch Schwefelsäure zur Entfernung des Ammoniaks und

---

pflanzlichen Stoffwechsel je nach der Menge des anästhesierenden Mittels und seiner Einwirkungszeit sehr verschieden ausfallen kann, zeigen die vom selben Autor später erhaltenen Resultate (W. Zaleski, Zur Frage über den Einfluß der Reize auf die Pflanzenatmung. Warschau 1902, russ.). Bei kurzer Einwirkung des Äthers und bei einem geringen Gehalt seiner Dämpfe in der Atmosphäre wurde die Kohlensäureabgabe gesteigert; bei längerer Wirkungsdauer und größeren Äthermengen wurde das Umgekehrte beobachtet. — Es können hier noch die Angaben von R. Bertel (Ber. d. d. bot. Ges. 20, 454, 1902) über den Einfluß des Chloroforms auf die Bildung des Tyrosins in Lupinenkeimlingen erwähnt werden; doch sind dieselben durch spätere Untersuchungen von E. Schulze und N. Castoro nicht bestätigt worden (Über den Tyrosingehalt der Keimpflanzen von Lupinus albus. Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 387, 1906).

[1]) Die Anwendung des Äthers erwies sich ungeeignet, weil der Zufluß seiner Dämpfe zu den anästhesierenden Pflanzen schwer zu regulieren war. Beim einfachen Durchleiten eines Luftstroms durch flüssigen Äther erwies sich seine Wirkung zu stark, und die Kohlensäureproduktion der Pflanzen wurde fast vollständig sistiert. Was das Chloroform betrifft, so beeinflußte es den Titer des Barytwassers, indem letzterer bedeutend vermindert wurde, wodurch die Kohlensäurebestimmung unmöglich gemacht wurde.

[2]) Diese Versuche wurden schon 1902 ausgeführt und deren Resultate auf der XI. Versammlung russischer Naturforscher u. Ärzte in St. Petersburg mitgeteilt. (S. Tagebuch d. XI. Vers. russ. Naturf. u. Ärzte in St. Petersb. 1902, 387.)

[3]) S. Cl. Bernard, l. c.

durch Ätzkali zur Befreiung von Kohlensäure durchgeleitet. Die durch den Apparat geleitete Luft wurde von Kohlensäure gereinigt, damit durch ein nachheriges Durchleiten durch eine Barytlösung die Kohlensäureabgabe der anästhesierten Keimlinge geprüft werden konnte. In den auf diese Weise angestellten Versuchen hörte die Entwicklung der Keimlinge auf, die Kohlensäureausscheidung dauerte dagegen während der ganzen Versuchszeit an.

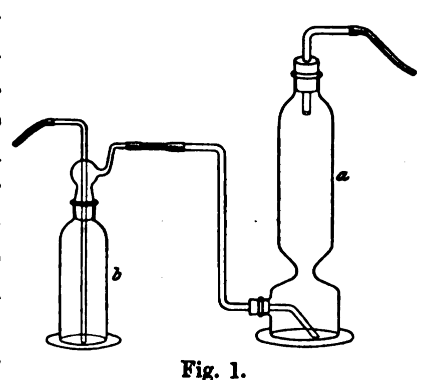


Fig. 1.

Zum ersten Versuch wurden 2 bis 3 tägige Keimlinge von Lupinus luteus benutzt. In diesem Falle wurde außer dem Versuche mit Toluol noch ein anderer Parallelversuch angestellt, in welchem die Keimlinge in Thymolwasser, welches einen Überschuß von feinzerriebenem Thymol enthielt, gelegt wurden. In diesem letzteren Versuche, wie auch im Toluolversuche wurde ein kontinuierlicher Luftstrom durchgesaugt, wobei auch hier eine während der ganzen Versuchszeit andauernde Kohlensäureausscheidung beobachtet. Von den Keimlingen des erwähnten Alters wurden drei gleiche Portionen zu je 20 g genommen. Die erste wurde sofort zur Analyse verwandt; die beiden anderen zum Versuche mit Toluol und Thymol benutzt, welcher 6 Tage dauerte. Nach Verlauf von 6 Tagen wurden beide Portionen auf dieselbe Weise wie auch die erste analysiert. Die im Toluol gewesenen Keimlinge hatten ein glasiges Aussehen und waren bräunlich gefärbt; sie reagierten alkalisch auf Lackmuspapier. Die im Thymolwasser verbliebenen Keimlinge wiesen ebenfalls eine alkalische Reaktion auf. Die Reaktion der frisch genommenen Keimlinge war, wie gewöhnlich, sauer.

Außer den erwähnten drei Proben wurde noch eine Probe derselben Keimlinge von 5 g behufs Bestimmung des Gesamtstickstoffs genommen und mit Schwefelsäure nach Kjeldahl verbrannt. In den übrigen drei Proben wurde der Stickstoff der durch Tannin und Bleizucker nicht fällbaren Substanzen,

der Amid- (Asparagin-) Stickstoff nach Sachsse und des Ammoniakstickstoffs nach Boßhard[1]) bestimmt.

Bei diesen Bestimmungen wurden folgende Stickstoffmengen in Prozenten des Gesamtstickstoffs der Keimlinge gefunden:

Versuch A.

	Keimlinge vor d. Versuch	Nach 6 T. Verweilen in Toluoldämpfen	Nach 6 T. Verweilen in Thymolwasser
N der durch Tannin und Bleizucker nicht fällbaren Substanzen	29,1	32,0	33,7
Amid- (Asparagin-) N nach Sachsse	2,5	0,2	1,1
Ammoniak-N nach Boßhard	1,2	14,4	9,3

Analytischer Beleg. Die im Mörser zerstoßenen Keimlinge wurden mit heißem Wasser ausgelaugt. Die Auszüge wurden, nach Entfernung der durch Tannin und Bleizucker fällbaren Substanzen auf ein Volum von 500 ccm gebracht. Aus den auf diese Weise gewonnenen Flüssigkeiten wurden genommen: zur Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts 75 ccm; zur Bestimmung des durch Kochen mit schwacher Salzsäure abspaltbaren Amidstickstoffs nach Sachsse und des Ammoniakstickstoffs nach Boßhard je 200 ccm. Bei allen Bestimmungen wurde zum Auffangen des Ammoniaks $^1/_{10}$ normale Schwefelsäure, zur Titration eine gleiche Lösung von Kaliumhydroxyd angewandt.

		Schwefelsäure genommen	Kalilauge beim Titrieren verbraucht	Stickstoff in g in der analysierten Probe	Stickstoff in g in 20 g Keimlinge
Gesamtstickstoff in 5 g Keimlinge . .		100	38,2	0,08652	0,34608
N der durch Tannin und Bleizucker nicht fällb. Subst. (75 ccm)	I	Bei allen Bestimmungen je 25 ccm	14,2	0,01512	0,10080
	II		13,15	0,01659	0,11060
	III		12,5	0,01750	0,11667
Ammoniak + Amid-N nach Sachsse (200 ccm)	I		21,3	0,00518	0,01295
	II		10,5	0,02030	0,05075
	III		14,7	0,01442	0,03605
Ammoniak-N nach Boßhard (200 ccm)	I		23,8	0,00168	0,00420
	II		10,8	0,01988	0,04970
	III		15,8	0,01288	0,03220

In beiden Versuchen wurde in den Keimlingen eine Anhäufung von bedeutenden Ammoniakmengen festgestellt, dessen Stickstoff bei den Toluol-Versuchen beinahe die Hälfte des Gesamtstickstoffs der durch Tannin nicht fällbaren Substanzen

[1]) E. Boßhard, Über Ammoniakbestimmung in Pflanzensäften und Pflanzenextrakten. Zeitschr. f. anal. Chem. 22, 329, 1883.

betrug. Die Menge des Proteinstickstoffs (im unlöslichen Rückstand und Tanninniederschlag) blieb beinahe unverändert; das Ammoniak hatte sich also auf Kosten der in den Keimlingen befindlichen Zerfallprodukte der Eiweißstoffe (Amide, Aminosäuren usw.) gebildet. Dabei spaltete sich als Ammoniak, wie aus den Analysenzahlen zu sehen ist, nicht nur der Amidstickstoff des Asparagins, sondern auch der Aminstickstoff der Aminosäuren ab.

Dasselbe Resultat wurde auch in einem anderen Versuche mit 5tägigen Keimlingen von Lupinus luteus erhalten. Der Versuch wurde ganz ebenso wie der vorhergehende Toluol-Versuch angestellt.

Versuch B.

	Keimlinge vor dem Versuch	Nach 3tägigem Verweilen in Toluoldämpfen
N der durch Tannin und Bleizucker nicht fällbaren Substanzen . . .	32,1	34,5
Amid-N (Asparagin-N) nach Sachsse	6,1	2,6
Ammoniak-N nach Boßhard . . .	0,9	8,3

Analytischer Beleg. Die Analyse wurde auf die gleiche Weise wie im obenstehenden Versuch A ausgeführt.

Gesamt-N-Gehalt		Schwefelsäure genommen	Kalilauge beim Titrieren verbraucht	N in g gefunden in der analysierten Probe	N in g gefunden in 20 g Keimlinge
der Keimlinge (5 g)		100	43,9	0,07854	0,31416
N der durch Tannin und Bleizucker nicht fällb. Subst. (75 ccm)	I	Bei allen Bestimmungen je 25 ccm	14,2	0,01512	0,10080
	II		13,4	0,01624	0,10827
Ammoniak + Amid-N nach Sachsse (200 ccm)	I		18,7	0,00882	0,02205
	II		15,2	0,01372	0,03430
Ammoniak-N nach Boßhard (200 ccm)	I		24,2	0,00112	0,00280
	II		17,55	0,01043	0,02607

In diesem Versuche war die Reaktion des aus den Keimlingen ausgepreßten Saftes eine neutrale (Lackmus).

Unter den gleichen Bedingungen wie früher wurde noch ein Versuch mit Erbsenkeimlingen (4 bis 5 Tage alt) ausgeführt.

Die Keimlinge wurden der Einwirkung des Toluols während 5 Tagen ausgesetzt. Nach Verlauf dieses Zeitraums blieb die

Reaktion ihres Preßsaftes sauer. Bei der Analyse wurden darin in Prozenten des Gesamtstickstoffs folgende N-Mengen gefunden:

Versuch C.

	Keimlinge vor dem Versuch	Nach 5tägigem Verweilen in Toluoldämpfen
N der durch Tannin und Bleizucker nicht fällbaren Substanzen . . .	27,9	36,7
Amid-N (Asparagin-N) nach Sachsse	2,3	1,3
Ammoniak-N nach Boßhard . . .	1,0	5,3

Analytischer Beleg. Sowohl zum Versuch als auch zur Untersuchung der ursprünglichen Zusammensetzung der Keimlinge wurden je 40 g gewonnen; zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs 10 g. Die Analyse wurde ganz ebenso wie in den vorhergehenden Versuchen ausgeführt.

		Schwefelsäure genommen	Kalilauge beim Titrieren verbraucht	N gefunden in g in der analysierten Probe	N gefunden in g in 40 g Keimlinge
Gesamt-N in den Keimlingen (10 g)		100	32,2	0,09492	0,37968
N der durch Tannin und Bleizucker nicht fällb. Subst. (75 ccm von 500 ccm)	I	Bei allen Bestimmungen je 25 ccm	13,65	0,01589	0,10593
	II		10,0	0,02100	0,14000
Ammoniak + Ammid-N nach Sachsse (200 ccm)	I		21,45	0,00497	0,01243
	II		17,85	0,01001	0,02503
Ammoniak-N nach Boßhard (200 ccm)	I		23,9	0,00154	0,00385
	II		19,3	0,00798	0,01995

Auch in diesem Falle ist in den mit Toluol behandelten Keimlingen eine bedeutende Steigerung des Ammoniakgehalts bemerkbar, welche durch die Verminderung des Amidstickstoffs des Asparagins nicht gedeckt wird. In diesem Versuch ist eine bedeutendere Verminderung des Proteingehalts bemerkbar, als in den früheren Versuchen mit Lupinen. Vielleicht hängt das davon ab, daß in den Erbsenkeimlingen die Bedingungen für die Wirkung des proteolytischen Enzyms infolge der Erhaltung einer sauren Reaktion sich günstiger gestalteten. In den Versuchen A und C wurde außerdem die von den Keimlingen ausgeschiedene Kohlensäure (am ersten und am letzten Tage) bestimmt. Dabei wurden folgende Zahlen erhalten, welche die Mittelwerte der stündlich ausgeschiedenen Kohlensäure in Milligramm ausdrücken:

Versuch A	Am 1. Tage . .	6,96
	Am 6. Tage . .	2,03
Versuch C	Am 1. Tage . .	15,37
	Am 5. Tage . .	1,61.

Die Kohlensäureausscheidung hat also bis zum Ende der Versuche angehalten, doch ist sie zuletzt viel schwächer als am Anfang gewesen.

Um jede Möglichkeit einer Annahme von der Mitwirkung der Mikroorganismen in dem durch obige Versuche festgestellten Ammoniakanhäufungsprozesse auszuschließen, führte ich noch einen Versuch mit Keimlingen der gelben Lupine in vollständig sterilen Bedingungen aus.

Versuch D. Sterilisierte Samen wurden in einem sterilisierten Apparate zum Keimen gebracht und die auf diese Weise erhaltenen sterilen Keimlinge ähnlich wie in den oben beschriebenen Versuchen der Einwirkung der Toluoldämpfe ausgesetzt.

Die Sterilisation der Samen wurde nach einem zu diesem Zwecke von Prof. N. Chudjakow vorgeschlagenen Verfahren

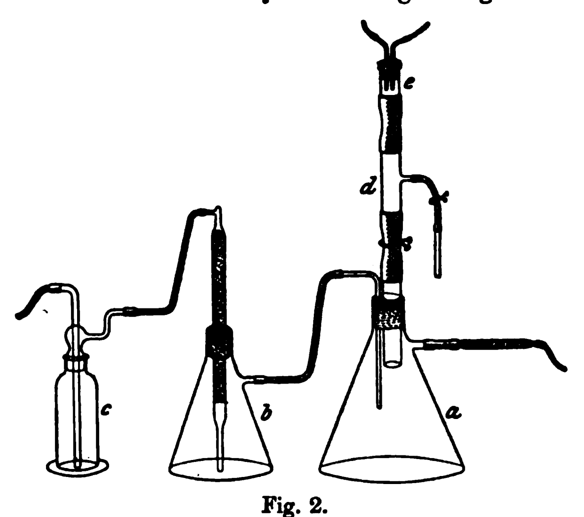


Fig. 2.

ausgeführt. Der ganze Apparat, in welchem der Versuch angestellt wurde, mit der Sterilisiervorrichtung für die Samen (*d e*) ist auf Fig. 2 abgebildet.

Die Einrichtung des Apparats ist aus der Abbildung verständlich und braucht nicht genauer beschrieben zu werden.

Die Kolben *a* und *b* und das Rohr *d* wurden gleichzeitig einer dreimaligen Sterilisation im Kochschen Apparat unterworfen. Das Rohr *e* wurde auf gleiche Weise einzeln sterilisiert und mit dem oberen Gummischlauch der Röhre *d* verbunden, nachdem die zum Versuche bestimmten Samen in dasselbe eingeführt waren. Im Kolben *a* befand sich eine Schicht von reinem, mit Wasser befeuchtetem Quarzsand, im Kolben *b* Wasser. Nach dem Sterilisieren wurden die Öffnungen beider Kolben *a* und *b* oberhalb der sie abschließenden Watte mit mit geschmolzenem Siegellack verschlossen.

Zum Versuche wurden 20 g Samen von Lupinus luteus genommen. Die Samen wurden vor dem Einfüllen in das Rohr *d* sorgfältig mit einer alkoholischen Sublimatlösung abgewaschen und der endgültigen Sterilisation erst im Rohre *d* selbst unterworfen, wobei der unterhalb desselben angesetzte Gummischlauch während dieser Operation mit einem Quetschhahn verschlossen blieb. Die Sterilisation selbst bestand darin, daß die Samen zuerst $^1/_2$ Stunde lang mit einer alkoholischen Sublimatlösung behandelt und dann mit sterilisiertem Wasser abgespült wurden, wobei diese Operation fünfmal wiederholt wurde. Die Sublimatlösung und das Wasser wurden durch den seitlichen Tubus des Rohres *d* abgegossen, welcher mit einem mittels Quetschhahn abgeschlossenen Gummirohr versehen war.

Nachdem die Samen sterilisiert waren, wurden sie sorgfältig so lange mit Wasser abgewaschen, bis keine Chlorreaktion mehr vorhanden war; dann wurde das Rohr *d* mit Wasser angefüllt und die Samen darin zum Aufquellen belassen. Nach 24 Stunden wurde das Wasser abgegossen und die aufgequollenen Samen durch den vom Quetschhahn befreiten unteren Gummischlauch in den Kolben *a* übergeführt. Daraufhin wurde der Hahn wieder am Schlauche festgeschraubt und letzterer oberhalb des Verschlusses abgeschnitten.

Die Samen wurden im Kolben *a* möglichst gleichmäßig verteilt und während ihrer Keimzeit ein kontinuierlicher Luftstrom durch den Apparat gesogen, die Luft strich dabei vorläufig durch Schwefelsäure und Kalilauge. Nach 5 bis 6 Tagen nach Beginn der Keimung, welche bei gewöhnlicher Temperatur vor sich ging, wurde vor dem Kolben *b* das Gefäß *c* mit Toluol

eingeschaltet. 6 Tage nach Einschaltung des Toluols wurde der Versuch unterbrochen. Die Keimlinge, deren Aussehen ähnlich wie auch in den früheren Versuchen ein glasiges und deren Färbung eine bräunliche war, wurden aus dem Kolben entfernt, in einem Mörser mit Sand zerrieben und mit heißem Wasser extrahiert. Der im Kolben *a* befindliche Sand wurde mit Wasser durchgewaschen und dieses Wasser dem aus den Keimlingen gewonnenen Auszuge zugefügt. Dann wurde die ganze Flüssigkeit filtriert und auf 500 ccm gebracht. Die Ammoniakbestimmung in dieser Flüssigkeit (nach Boßhard) ergab folgende Resultate:

Es wurden 400 ccm genommen. Die Flüssigkeit wurde mit Tannin von Proteinsubstanzen und mit Bleizucker von Tannin befreit und bis auf 500 ccm gebracht. Aus dem Filtrat wurden zur Ammoniakbestimmung zwei Proben zu je 200 ccm genommen. Zum Auffangen des Ammoniaks beim Kochen des Niederschlags von der Phosphorwolframsäure mit Magnesia wurden 50 ccm $^1/_{10}$ norm. Schwefelsäure gebraucht. Zum Neutralisieren der freigebliebenen Säure wurde 1. 25,7 ccm und 2. 25,9 ccm $^1/_{10}$ ccm norm. Kalilauge verwandt, d. h. im Mittel 25,8 ccm. Der Stickstoffgehalt des ausgeschiedenen Ammoniaks war also = 0,033 88 g. Daraus kann der Stickstoff des in sämtlichen untersuchten Keimlingen enthaltenen Ammoniaks auf 0,105 09 g berechnet werden.

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs der Samen wurde in einer besonderen Probe nach Kjeldahl ausgeführt. Substanz 1,243 g, $^1/_{10}$ norm. Schwefelsäure 100 ccm genommen. Beim Titrieren 42,8 ccm $^1/_{10}$ norm. Kalilauge verbraucht. Daraus ergibt sich die Stickstoffmenge = 0,08008 g oder 6,44 % der lufttrockenen Samensubstanz.

Wenn wir die Stickstoffmenge des in den Lupinenkeimlingen gefundenen Ammoniaks in Prozenten des Gesamtstickstoffs derselben ausdrücken, so erhalten wir 8,2 %. Es ist also auch in diesem Versuche der Ammoniakgehalt der mit Toluol behandelten Keimlinge ein bedeutend höherer als der bei normalen Bedingungen beobachtete. Das vollständige Fehlen von Mikroorganismen in der Lupinenkultur im Kolben *a* wurde sowohl durch mikroskopische Untersuchung als auch durch Abimpfen auf Nährgelatine festgestellt. Außerdem muß hier bemerkt werden, daß die angeführte Zahl dem wirklichen Ammoniakgehalt der Keimlinge nicht entspricht. Derselbe war, wenn man ausschließlich die Keimlinge berücksichtigt, zweifellos noch höher, denn ein bedeutender Teil der in den Kolben *a* eingeführten Samen keimte überhaupt nicht; der Ammoniakstick-

stoff wurde aber in bezug auf den Stickstoffgehalt sämtlicher zum Versuch benutzten Samen berechnet.

Beim Bestimmen der von den Keimlingen ausgeschiedenen Kohlensäure wurden für den ersten Tag nach Einführen des Toluols und für den letzten Tag folgende Mengen in Milligramm pro Stunde (im Mittel) erhalten:

1. Tag . . 50,8 6. Tag . . 15,4.

Versuch E. Dieser Versuch sollte darüber Aufschluß geben, ob die Ammoniakbildung in den mit Toluol behandelten Keimlingen von der Sauerstoffanwesenheit abhängig ist. Die Aufklärung dieser Abhängigkeit schien mit Rücksicht auf den von Palladin[1]) und anderen Autoren[2]) festgestellten Zusammenhang zwischen Sauerstoffgegenwart und Asparaginbildung von Interesse zu sein. Wenn wir annehmen, daß der von Ammoniakbildung begleitete Umsatz der primären Zerfallprodukte der Eiweißstoffe eine Vorstufe zur Asparagin- (oder Glutamin-) Bildung vorstellt, so kommen wir natürlicherweise zu der Frage, ob der Sauerstoff schon in diesem Stadium des zur Asparaginbildung führenden Prozesses einen Einfluß ausübt.

Zum Versuch wurden 2 bis 3wöchentliche, etiolierte Erbsenkeimlinge benutzt. Die Keimlinge wurden in zwei Teile von gleichem Gewicht geschieden. Der eine Teil wurde in den auf Fig. 1 abgebildeten Apparat gelegt und darin dem Einfluß der Toluoldämpfe unter fortwährendem Durchsaugen eines mit diesen Dämpfen gesättigten Luftstromes unterworfen, ganz so, wie es in den oben beschriebenen Versuchen A, B und C geschehen war. Der andere Teil wurde in einen Becher (*b*) gelegt und unter eine Glasglocke, wie das auf Fig. 3 dargestellt ist, gestellt. Neben dem Glase wurde unter die Glocke die Schale *c* mit Toluol und unten die Schale *a* mit Pyrogallol gestellt. Dann wurde das äußere Ende des Rohres *d*, dessen unteres Ende bis

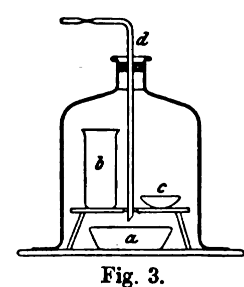


Fig. 3.

[1]) W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 1888, 205 u. 296.

[2]) Suzuki, Bull. College of Agric., Imp. Univ. Tokyo. 4, 531, — E. Godlewski, Anzeiger d. Akad. d. Wissensch. in Krakau 1904, 115.

zur Schale *a* reichte, mit einem Aspirator vereinigt und nach starkem Evakuieren durch dasselbe Rohr *d* eine Ätznatronlösung in die Schale *a* eingeführt. Dann wurde das äußere Ende der Röhre *a* abgeschmolzen, der die obere Glockenöffnung verschließende Stopfen mit Quecksilber bedeckt und der ganze Apparat in eine Schale mit Wasser gestellt, so daß die Glockenränder damit bedeckt waren. In diesem sauerstofffreien und mit Toluoldämpfen gesättigten Raume verblieben die Keimlinge 6 Tage. Ebenso lange dauerte auch der Versuch im Zylinder, durch welchen Luft geleitet wurde.

Nach Verlauf von 6 Tagen wurde in beiden Portionen eine Ammoniakbestimmung ausgeführt, wobei die Bestimmung, wie in den früheren Versuchen, nach Boßhard gemacht wurde. Außerdem wurde in den Versuchspflanzen der Gesamtstickstoff bestimmt.

Die Menge des Ammoniakstickstoffs in Prozenten des Gesamtstickstoffs betrug für die mit Toluol behandelten Keimlinge bei Sauerstoffgegenwart 6 bis 8 $^0/_0$, dagegen bei Abwesenheit weniger als 1 $^0/_0$.[1]) Letztere Größe nähert sich der gewöhnliche Ammoniakgehalt in normalen Keimlingen. Es konnte also die Ammoniakbildung in diesem Versuche nur in Gegenwart des Sauerstoffs konstatiert werden.

Versuche über den Einfluß des Hungerns.

Beim Ausführen der weiter beschriebenen Versuche[2]) bemühte ich mich, dieselbe Frage über die Ammoniakbildung beim Stickstoffumsatz in höheren Pflanzen auf einem anderen Wege zu erforschen, unter Bedingungen, welche sich den normalen mehr als diejenigen der obenbeschriebenen Versuche näherten. Den Ausgangspunkt bildeten dabei folgende Erwägungen.

Wenn unter normalen Bedingungen das Ammoniak sich in den Pflanzen deshalb nicht ansammelt, weil es fortwährend

---

[1]) Hier führe ich nur annähernde Zahlen aus dem Gedächtnis an, da das auf diesen Versuch sich beziehende Ziffermaterial zufällig verloren gegangen ist.

[2]) Diese Versuche wurden im Jahre 1907 ausgeführt und deren Resultate auf der Versammlung zum Andenken D. I. Mendelejeffs in St. Petersburg im Dez. 1907 mitgeteilt.

zum Aufbau verschiedener Stickstoffverbindungen (Eiweißstoffe, Asparagin usw.) verbraucht wird, so könnte man seine Anhäufung in solchen Bedingungen erwarten, wo derartige Synthesen infolge von Erschöpfung der dazu dienenden kohlenstoffhaltigen Reservestoffe unmöglich werden.

Den ersten Beweis für die Gültigkeit dieser Annahme lieferte mir eine zufällige Beobachtung an einer alten, im Dunkeln aufbewahrten Kultur der gelben Lupine. Als die Keimlinge infolge der eintretenden Erschöpfung der in den Samen gespeicherten Reservestoffe dem Absterben nahe waren, zeigten sie ein glasiges Aussehen, und ihr Saft reagierte alkalisch, wobei mit Neßlers Reagens Ammoniak darin nachgewiesen werden konnte.

Diese Beobachtungen konnten nicht für entscheidend gelten, da die Kulturen nicht steril waren und die Ammoniakbildung der Bakterientätigkeit zugeschrieben werden konnte.

In diesem Falle könnte nur ein in streng sterilen Bedingungen durchgeführter Versuch als beweiskräftig gelten.

Ein solcher Versuch wurde nun vorgenommen. Doch ehe ich zu seiner Ausführung schritt, wandte ich mich zur Lösung der Frage nach der bequemsten und sichersten Weise sterile Kulturen zu erhalten. Es war wünschenswert, die früher von mir benutzte Methode angesichts ihrer Umständlichkeit durch eine einfachere zu ersetzen.

Die einfacheren bis jetzt gebrauchten Sterilisiermethoden mit wässerigen Sublimat- und Bromlösungen[1]) konnte ich nach einer entsprechenden Prüfung nicht für empfehlenswert ansehen. Durch die erste der erwähnten Methoden wird das Ziel nicht immer erreicht; die zweite wirkt allerdings sicherer sterilisierend, erfordert aber eine große Vorsicht in ihrer Anwendung, da durch das Brom die Samen selbst leicht gefährdet werden.

Nach dieser Prüfung machte ich den Versuch, zum Sterilisieren der Samen eine Formaldehydlösung anzuwenden, welche aus dem käuflichen Formalin (eine 40 %ige Formaldehydlösung) durch entsprechende Verdünnung bereitet wurde.

---

[1]) W. Polowzow, Untersuchungen über die Atmung der Samen, Mém. de l'Acad. Imp. d. Sc. de St. Pétersbourg. Cl. phys. math. 12, (Nr. 7), 1901 (russ.).

Ein vorläufiger Versuch zeigte mir, daß Lupinensamen ihre Keimfähigkeit nach einer 8 bis 10 stündigen Einwirkung einer 5 %igen Formaldehydlösung beibehalten. Weitere Versuche, welche die zum Erreichen einer vollständigen Sterilisation notwendige Einwirkungsdauer feststellen sollten, ergaben das Resultat, daß eine 3 bis 6 stündige Einwirkung der oben bezeichneten Lösung dazu vollkommen ausreicht.

Zu diesen Versuchen wurden Glasröhren, welche mit einer kugelförmigen Erweiterung in ihrem unteren Teile versehen waren, gebraucht; sowohl die Kugel als auch der mittlere Teil des Glasrohrs waren mit einem Tubulus versehen. Am unteren Tubulus wurde ein kurzer, mit einem Quetschhahn verschließbarer Gummischlauch befestigt, der seitliche durch einen Gummischlauch mit einem Wasser enthaltenden, mit Watte verschlossenen Kolben verbunden. Der untere Teil der Kugel wurde mit Kies gefüllt, die obere Mündung des Rohrs mit Watte verschlossen und der ganze Apparat (siehe Tafel I, Fig. 4) im Autoklaven unter einem Drucke von zwei Atmosphären sterilisiert. Zum Versuche wurden zwei solche Apparate zusammengestellt. Nach der Sterilisation wurden in jeden von ihnen eine Anzahl von vorher mit 5 %iger Sodalösung, Wasser und Weingeist abgewaschenen Lupinensamen gelegt und darauf die Kugel mit einer 5 %igen Formaldehydlösung angefüllt. In einem Rohre wurde diese Lösung 3 Stunden, im anderen 6 Stunden gelassen. Darauf wurde die Formaldehydlösung durch das untere Ableitungsrohr abgegossen und das Rohr mit dem Kies und den Samen wiederholt mit Wasser aus dem obenerwähnten Kolben durchgespült. Dann wurden die Röhren mit den Samen (welche mit einer dünnen Wasserschicht bedeckt blieben) bei gewöhnlicher Temperatur (ca. 20° C) stehen gelassen. Alle Samen keimten und lieferten gut entwickelte Keimlinge. Die Kulturen wurden im Dunkeln aufbewahrt und das verdunstete Wasser von Zeit zu Zeit aus dem mit dem seitlichen Tubulus verbundenen Kolben nachgefüllt. 6 bis 7 Wochen lang behielten die in den Röhren wachsenden Keimlinge ein vollkommen normales Aussehen, doch gegen Ende dieser Periode fingen sie an ein glasiges Aussehen und eine bräunliche Färbung zu erhalten. Nach 7 bis 8 Wochen wurden die Röhren geöffnet und deren Inhalt untersucht. Die Untersuchung ergab,

daß die Kulturen steril geblieben waren. Weder durch mikroskopische Beobachtung des Preßsaftes der Keimlinge, noch durch Abimpfen auf Nährgelatine konnten Mikroorganismen nachgewiesen werden. In den glasig gewordenen Keimlingen war die Reaktion ihres Zellsafts ausgesprochen alkalisch (auf Lackmuspapier).

Nach diesen vorläufigen Versuchen wurden sterile Kulturen in größerem Maßstabe angesetzt, in Bedingungen, welche eine quantitative Untersuchung der Stickstoffumsatzprodukte ermöglichen könnten.

Zu diesem Zwecke wurden zwei 500 ccm fassende runde, mit vier seitlichen Röhren versehene Kolben genommen. Zwei dieser Seitenansätze befanden sich oben und dienten zum Durchsaugen der Luft; die anderen zwei unten, der eine zum Abgießen, der andere zu mEinleiten der Flüssigkeiten. Letzterer wurde durch einen Gummischlauch mit einem mit Watte verschlossenen und mit Wasser gefüllten Kolben verbunden. Durch Öffnen des Quetschhahns am Gummischlauch konnte Wasser aus diesem Kolben in den runden Kulturkolben übergeleitet werden. Auf dem unteren vertikalen Ansatzrohr, welches zum Abgießen der Flüssigkeit bestimmt war, wurde ein kurzer mit einem Quetschhahn versehener Gummischlauch angebracht. Die zum Luftdurchsaugen bestimmten Seitenröhren wurden mittels Gummischläuchen mit ca. 20 cm langen, mit Watte ausgefüllten Glasröhren verbunden. Der Boden der Kolben wurde mit einer Kiesschicht bedeckt, die Mündung mit einem Wattepropf verschlossen und der ganze auf diese Weise zusammengesetzte Apparat mitsamt dem damit verbundenen Wasserkolben im Autoklaven unter einem Drucke von 2 Atmosphären sterilisiert.

Nach dem Sterilisieren wurden in beide Kolben durch ihre Mündung aus einem Reagensrohr (dessen Rand und Oberfläche an der Flamme abgesengt waren) je 10 g Lupinensamen eingeschüttet. Die Samen wurden vorher in demselben Reagensrohr mit einer 5 %igen Sodalösung, sterilisiertem Wasser und 96 %igem Alkohol abgewaschen. Dann wurde in die Kolben sofort so viel einer 7 %igen Formaldehydlösung eingeführt, daß die auf dem Kiese liegenden Samen davon bedeckt waren. Der die Mündung des Kolbens verschließende Wattestopfen wurde abgesengt, etwas tiefer in den Kolbenhals hereingedrückt und oberhalb

mit Siegellack zugegossen. Die Formaldehydlösung verblieb im Kolben 5 Stunden, woraufhin dieselbe ausgegossen und durch sterilisiertes Wasser aus dem mit dem Apparat verbundenen Kolben ersetzt wurde. Das Wasser wurde mehrmals gewechselt und dieses Auswaschen so lange fortgesetzt, bis das Waschwasser keinen Formaldehydgeruch mehr hatte. Darauf wurde soviel Wasser in den Kolben geleitet, daß eine dünne Schicht desselben die Samen und den Kies bedeckte, und durch beide Kolben zum endgültigen Entfernen der letzten Formaldehydspuren 24 Stunden lang ein Luftstrom durchgesogen.

Am zweiten Tage begannen die Samen zu keimen, und zugleich wurde mit der Bestimmung der von den Keimlingen ausgeschiedenen Kohlensäure begonnen. Beide Kulturgefäße wurden in eine dunkle Pappekammer gestellt, und während der ganzen Versuchszeit wurde mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe, welche mit einem Quecksilberdruckregulator versehen war, ein kontinuierlicher Luftstrom durch die Kolben gesogen. Die einströmende Luft wurde von Kohlensäure und Ammoniak befreit, indem sie durch Natronkalk, konzentrierte Schwefelsäure und Kalilauge und zur Kontrolle noch durch eine Barytlösung geleitet wurde. Die von den Keimlingen ausgeschiedene Kohlensäure wurde in Pettenkoferschen Röhren mit Barytlösung absorbiert und durch Titration bestimmt. Die Bestimmung der Kohlensäure wurde in diesem Falle erstens deswegen vorgenommen, um in ihrer Ausscheidungsintensität ein Maß für den Erschöpfungsgrad der organischen Reservestoffe zu gewinnen, welche als Atmungsmaterial dienten. Außerdem bieten die Daten, welche den Atmungsprozeß während der ganzen Entwicklungsperiode der Keimlinge auf Kosten der in den Samen angehäuften Reservestoffe bis zu ihrem Erschöpfungstode charakterisieren, auch ein selbständiges Interesse, da solche Angaben bis jetzt in der Literatur nur spärlich vorhanden sind.[1])

---

[1]) L. Rischawi, Einige Versuche über die Atmung der Pflanzen. Landw. Versuchs-St. 19, 321, 1875. — Ad. Mayer, Über den Verlauf der Atmung beim keimenden Weizen. Landw. Versuchs-St. 18, 245, 1875. — S. Krzemieniewski, Über den Einfluß von Mineralnährsalzen auf den Verlauf der Atmung bei keimenden Samen. Bulletin de l'Acad. des Sc. de Cracovie. Cl. des sc. math. et nat. Mars 1902, 163.

Tabelle A.

Zeit des Wechsels des $Ba(OH)_2$ in den Pettenkoferschen Röhren	Zeit in Stunden	Kultur I CO_2 in mg		Kultur II CO_2 in mg	
		Gesamt-menge	Pro 1 Stunde	Gesamt-menge	Pro 1 Stunde
1. 22./X. 12 Uhr tags	47	55,76	1,19	91,02	1,94
2. 24./X. 11 „ „	47	138,17	2,94	210,33	4,47
3. 25./X. 12 „ „	25	114,80	4,59	170,56	6,82
4. 25./X. $12\frac{1}{2}$ „ „	$12\frac{1}{2}$	82,00	6,56	108,24	8,66
5. 26./X. 12 „ „	$23\frac{1}{2}$	166,46	7,09	195,98	8,34
6. 27./X. 12 „ „	12	107,42	8,95	110,70	9,22
7. 27./X. 12 „ nachts	12	116,44	9,70	113,98	9,50
8. 28./X. 12 „ tags	12	108,65	9,05	100,86	8,41
9. 29./X. $2\frac{1}{2}$ „ „	$26\frac{1}{2}$	213,61	8,06	205,00	7,74
10. 30./X. $2\frac{1}{2}$ „ „	24	178,76	7,45	173,04	7,21
11. 31./X. $2\frac{1}{2}$ „ „	24	194,34	8,10	184,50	7,69
12. 1./XI. 1 „ „	$22\frac{1}{2}$	171,38	7,61	176,71	7,86
13. 2./XI. 11 „ „	22	153,75	6,99	151,70	6,90
14. 3./XI. 12 „ „	25	147,60	5,90	147,19	5,89
15. 4./XI. 1 „ „	25	145,14	5,81	134,58	5,38
16. 5./XI. 1 „ „	24	125,46	5,23	100,04	4,17
17. 6./XI. 2 „ „	25	129,56	5,18	104,14	4,17
18. 7./XI. 6 „ abends	28	122,59	4,38	99,63	3,56 } Wasser eingeführt
19. 8./XI. 7 „ „	25	110,93	4,44	117,26	4,69 }
20. 10./XI. 7 „ „	48	221,81	4,62	231,24	4,82
21. 12./XI. 7 „ „	48	221,81	4,62	226,73	4,72
22. 13./XI. 12 „ nachts	29	132,84	4,58	136,12	4,70
23. 15./XI. 12 „ tags	36	137,76	3,83	150,06	4,17
24. 17./XI. 1 „ „	49	184,50	3,77	179,58	3,67
25. 19./XI. 2 „ „	49	138,17	2,82	128,74	2,63
26. 21./XI. 6 „ abends	52	146,78	2,82	123,41	2,45
27. 23./XI. 8 „ „	50	136,94	2,74	106,60	2,13
28. 25./XI. 12 „ tags	40	91,43	2,29	75,03	1,88
29. 26./XI. 9 „ abends	33	62,73	1,90	57,40	1,74
30. 28./XI. $1\frac{1}{2}$ „ tags	$40\frac{1}{2}$	72,57	1,79	74,62	1,84
31. 30./XI. $2\frac{1}{2}$ „ „	49	77,08	1,57	82,82	1,69
32. 2./XII. 6 „ abends	$51\frac{1}{2}$	66,83	1,30	70,93	1,38
33. 5./XII. 1 „ tags	67	55,35	0,83	73,80	1,10
34. 7./XII. 1 „ „	48	26,24	0,55	72,98	1,52

Der Versuch dauerte 7 Wochen. Beinahe bis zum Ende des Versuches sahen die Keimlinge ganz normal aus. (Vgl. Taf. I, Fig. 5, welche eine photographische Aufnahme der Kultur

am Ende der fünften Woche darstellt.) Erst in der siebenten Woche fingen einige von ihnen an, ein glasiges Aussehen zu gewinnen, wobei diese Veränderung zuerst im oberen, an die Kotyledonen grenzenden Teil des Hypokotyls sichtbar wurde. Der Versuch wurde bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt, welche täglich zwischen 18 bis 20° schwankte.

In der nebenstehenden Tabelle sind die bei der Kohlensäurebestimmung erhaltenen Daten zusammengestellt. Die Bestimmungen wurden am 20. Oktober um 1 Uhr nachmittags begonnen.

Auf Fig. 6 ist der Gang der Kohlensäureausscheidung graphisch dargestellt; auf der Abszissenachse ist die Zeit in

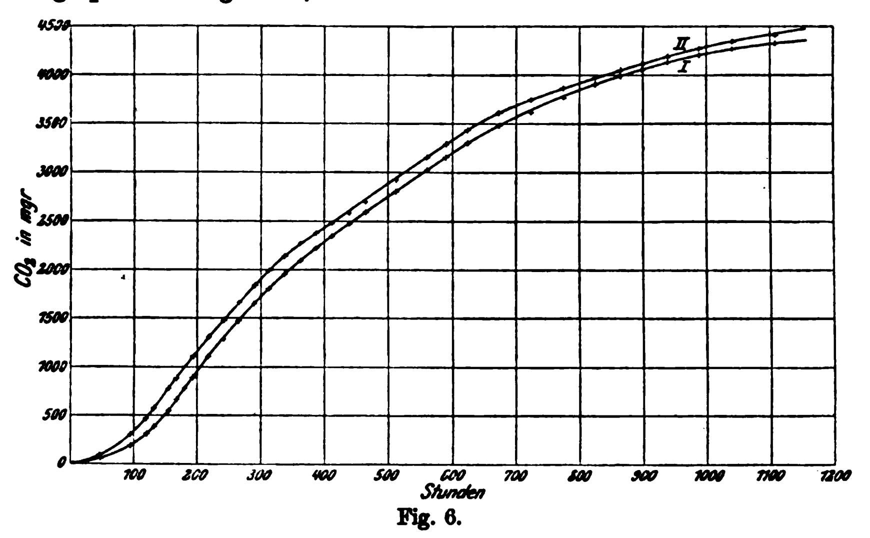


Fig. 6.

Stunden, auf der Ordinatenachse in einem bestimmten Zeitraume vom Beginn des Versuches ausgeschiedene Kohlensäure in Milligramm aufgetragen.

In den ersten Tagen steigt die von dem Keimlinge ausgeatmete Kohlensäuremenge rasch, erreicht am achten Tage ihr Maximum (ungefähr 10 mg pro Stunde), — dann sinkt sie ganz allmählich und fällt zum Ende des Versuchs (in der I. Kultur) auf 0,5 mg pro Stunde.

Da die Möglichkeit vorhanden war, daß die Keimlinge Ammoniak in gasförmigem Zustande ausscheiden könnten, so wurde eine Woche vor Abschluß des Versuchs zwischen den

Kulturgefäßen und den Pettenkoferschen Röhren Absorptionskolben mit titrierter Schwefelsäure eingeführt, welche in 1 ccm 0,004794 g H_2SO_4 enthielt. In jeden Kolben wurden 20 ccm dieser Lösung eingeführt. Nach Abschluß des Versuchs wurde die Schwefelsäure mit Ammoniak (zur Sättigung von 10 ccm der gebrauchten Schwefelsäuren waren 20 ccm Ammoniaklösung nötig)[1]) titriert und dabei folgende Resultate erhalten:

	Schwefelsäure genommen	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Ammoniak — N gefunden
	ccm	ccm	g
Versuch 1	20	36,3	0,00250
„ 2	20	36,5	0,00240

Nur der Versuch mit der I. Kultur konnte vollkommen einwandfrei bis zu Ende geführt werden; der andere verunglückte kurz vor dem Abschlusse, indem der am hinteren Seitenfortsatze des Kolbens befestigte Gummischlauch platzte und durch die entstandene Öffnung eine Infektion stattfand. Die den Kies ausfüllende Flüssigkeit, welche während der ganzen Versuchszeit durchsichtig war, trübte sich etwas, und die mikroskopische Untersuchung erwies darin das Vorhandensein von beweglichen Stäbchenbakterien. Durch diese Infektion ist auch die zuletzt konstatierte Erhöhung der Kohlensäureproduktion erklärbar.

Der erste Versuch verlief dagegen vollkommen glücklich und die Kultur blieb bis zum Ende steril. Die im Versuchskolben befindliche Flüssigkeit war vollständig durchsichtig und weder durch mikroskopische Untersuchung, noch durch Abimpfen auf Nährgelatine konnten Bakterien darin entdeckt werden. Nur diese Kultur wurde einer weiteren Untersuchung unterworfen.

Die Reaktion sowohl der Flüssigkeit als auch des Zellsafts der Keimlinge (nicht nur der glasig gewordenen, sondern auch der normal aussehenden) war alkalisch (auf Lackmuspapier).

Die dem Kolben entnommenen Keimlinge wurden mit einer geringen Quarzsandmenge im Mörser zerrieben, die ganze zerriebene Masse mit der den Kies ausfüllenden Flüssigkeit in

[1]) Die benutzte Ammoniaklösung enthielt in 1 ccm 0,000686 gr Stickstoff.

einem Meßkolben von 500 ccm übergeführt und das Gesamtvolumen der Flüssigkeit auf 500 ccm gebracht. Nach einiger Zeit wurde die Flüssigkeit abfiltriert und folgende Stickstoffbestimmungen ausgeführt: Gesamtstickstoff, Stickstoff der durch Bleizucker nicht fällbaren Substanzen, Amidstickstoff nach Sachsse und Ammoniakstickstoff. Letzterer wurde nach zwei Methoden bestimmt: erstens durch Abdestillieren mit Magnesia bei vermindertem Druck von 50 mm[1]) und zweitens durch Ausfällen mit Phosphorwolframsäure nach Boßhard. Außerdem wurde die Gasamtstickstoffmenge in den Versuchssamen bestimmt.

Zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs in dem Auszug wurden 50 ccm genommen, zum Ausfällen mit Bleizucker 300 ccm und das Filtrat auf 500 ccm gebracht. Aus diesem Filtrat wurden zur Bestimmung des darin enthaltenen Gesamtstickstoffs 50 ccm, zur Bestimmung des Amidstickstoffs (nach Sachsse) und des Ammoniakstickstoffs je 100 ccm genommen. Zum Auffangen des Ammoniaks wurde in allen Bestimmungen eine Schwefelsäurelösung gebraucht, welche 0,004794 g H_2SO_4 in 1 ccm enthielt; die zur Titration dienende Ammoniaklösung enthielt 0,000686 g N in 1 ccm. 10 ccm H_2SO_4 entsprechen 20 ccm NH_3.

	Schwefelsäure genommen ccm	Ammoniak beim Titrieren verbr.	N in g gefunden in der analysierten Probe	N in g gefunden in der ganzen Kultur
Gesamt-N in 1,668 g Samen . . .	100	37,0	0,111818	0,67037
N im Auszug	40	0,5	0,054537	0,54537
N der mit Bleizucker nicht fällbaren Substanz	40	33,1	0,032173	0,53622
Amid-N nach Sachsse + Ammoniak-N	30	21,5	0,026411	0,22009
Ammoniak-N:				
1. mit MgO unter vermindertem Druck abdestilliert	10	4,9	0,010359	0,08632
2. nach Boßhard	10	4,8	0,010427	0,08689
Mittel:				0,08661

Wenn wir zu dem aus der Analyse gefundenen Ammoniak das während des Versuchs von der Schwefelsäure absorbierte hinzufügen, so erhalten wir die Gesamtmenge des Ammoniakstickstoffs = 0,08911 g.

Wenn wir die erhaltenen Zahlen in Prozenten des Gesamtstickstoffs der zur Kultur genutzten Samen ausdrücken, so erhalten wir folgende Daten:

---

[1]) Vgl. Nencki und Zaleski, Über die Bestimmung des Ammoniaks in tierischen Flüssigkeiten und Geweben. Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 193, 1901.

N des Auszugs	81,35 %
N der mit Bleizucker nicht fällbaren Substanzen	80,00 „
Amid-N nach Sachsse (mit Ausschluß des NH_3-N)	19,91 „
Ammoniak-N	13,29 „

Somit haben die Erwägungen, welche als Ausgangspunkt beim Aufstellen dieses Versuchs gedient hatten, ihre volle tatsächliche Bestätigung gefunden. Hungernde Pflanzen, welche ihre beweglichen organischen Reservestoffe erschöpft haben, zeigen eine Anhäufung von Ammoniak in solchen Mengen, welche die gewöhnlich in normalen Keimlingen beobachteten um vieles übertreffen.

Über den Erschöpfungsgrad der Keimlinge in unserer Kultur kann man nach der im Laufe des Versuches ausgeschiedenen Kohlensäuremenge urteilen. Ihre Menge beträgt für die I. Kultur 4,356 g, für die II. 4,486 g. Wenn wir die erste der Kultur I entsprechende Zahl nehmen und die Menge des Kohlenstoffs berechnen, so erhalten wir 1,188 g.

Zum Bestimmen der Trockensubstanz der Versuchssamen wurde in einer besonderen Probe der Wassergehalt derselben bestimmt; er wurde = 9,43 % gefunden. Außerdem wurden beim Herausnehmen der Keimlinge aus dem Kolben, in welchem sie keimten, die abgeworfenen Samenschalen und die ungekeimten Samen (es waren deren nur zwei; zum Versuch waren im ganzen 72 Samen genommen) einzeln ausgesucht, getrocknet und gewogen. Diese Wägung ergab 2,262 g.

Wenn man vom Gewichte der Versuchssamen (10 g) das Gewicht des darin enthaltenen Wassers und der Samenschalen abzieht, d. h. 0,943 g + 2,262 g = 3,205 g, so erhält man 6,80 g. Der Kohlenstoffgehalt der Samen kann 45 bis 50 % angenommen werden; daraus können wir schließen, daß die während des Versuchs ausgeschiedene Kohlenstoffmenge, ca. 35 bis 40 % (d. h. mehr als $^1/_3$) des Gesamtkohlenstoffs der Samen (ohne Schalen) betrug. Dabei muß in Betracht gezogen werden, daß die durch Baryt absorbierte und bestimmte Kohlensäure der Gesamtmenge des von den Keimlingen produzierten Gases nicht entspricht, da ein Teil derselben in der Kultur teils in der Flüssigkeit gelöst, teils durch das gebildete Ammoniak gebunden wurde.

Weiter entsteht die Frage, ob die Bildung des Ammoniaks in den Keimlingen nicht vielleicht eine postmortale Erscheinung bietet, welche durch die Einwirkung der darin enthaltenen Säuren auf die Amide (Asparagin) bedingt sei. Diese Annahme ist wenig wahrscheinlich, wenigstens in bezug auf die Gesamtmenge des gebildeten Ammoniaks, da zu Ende des Versuchs, wie schon erwähnt, in den Keimlingen sich eine alkalische Reaktion einstellte. Aber um die mögliche Rolle der Säuren in diesem Prozesse klarzulegen, wurde folgender

Versuch mit durch Hitze abgetöteten und sterilen Keimlingen

angestellt. 30 12 bis 14 Tage alte Keimlinge der gelben Lupine wurden in einen Erlenmeyer-Kolben gelegt. Derselbe wurde mit Watte verschlossen, an drei nachfolgenden Tagen im Kochschen Apparat zu je 15 Min. sterilisiert, und dann bei gewöhnlicher Temperatur (ca. 20° C) stehen gelassen. Nach 9 Wochen wurde in den steril gebliebenen Keimlingen das Ammoniak wie früher (nach Boßhard) bestimmt.

Von 200 ccm Auszug wurden zur Ammoniakbestimmung 100 ccm genommen. 10 ccm der zur Analyse benutzten Schwefelsäure entsprachen 23 ccm der zur Titration dienenden Ammoniaklösung. 1 ccm derselben enthielt 0,000596 g N.

Schwefelsäure genommen ccm	Ammoniak beim Titrieren verbraucht	Ammoniak-N in der analysierten Probe in g	Ammoniak-N Gesamtmenge in g
20	44,6	0,0008344	0,00167

In 30 Keimlingen wurde 0,00167 Ammoniakstickstoff gefunden. Die zum Versuch benutzten Lupinensamen enthielten im ganzen 6,70 % N, und in 10 g Samen waren 72 Samen enthalten. Daraus finden wir, daß in den 30 Samen des letzten Versuchs 0,28 g N enthalten waren. Indem wir die gefundene Ammoniakstickstoffmenge in Prozenten dieses Gesamtstickstoffs ausdrücken, erhalten wir 0,60 %. Diese Größe entspricht dem gewöhnlichen Ammoniakgehalt in 2- bis 3wöchentlichen Lupinenkeimlingen. Bei einer 9wöchentlichen Einwirkung der Pflanzensäuren auf das darin enthaltene Asparagin konnte also keine nennenswerte Ammoniakabspaltung in den Samen beobachtet werden. Daraus folgt, daß auch in den oben beschriebenen Versuchen die Säuren keine wesentliche Rolle bei der Ammoniakbildung gespielt haben.

Der Ursprung des in den Keimlingen gespeicherten Ammoniaks.

Aus den Zahlenbelegen der Toluol-Versuche ist zu ersehen, daß an der Ammoniakbildung nicht die Eiweißstoffe, sondern ihre Zerfallprodukte sich beteiligt haben, und von diesen letzteren nicht nur die Aminosäuren, sondern auch das Asparagin mit seiner Amidgruppe.

Was die Versuche mit den hungernden Keimlingen betrifft, so wissen wir nichts über das Verhältnis der Stickstoffverbindungen im Stadium, welches der Ammoniakbildung in den Keimlingen vorherging, und zugleich haben wir keine Anhaltspunkte, um die Frage über den Ursprung des Ammoniaks zu lösen.

Wenn wir uns aber zu den in der Literatur vorhandenen Analysen der 3- bis 4wöchentlichen Lupinenkeimlinge wenden und deren Ergebnisse mit den unsrigen vergleichen, so kommen wir zu dem Schluß, daß die unmittelbare Beteiligung der Eiweißstoffe ausgeschlossen werden muß. Aus den Arbeiten von Schulze, Merlis u. a. ist zu ersehen, daß in Lupinenkeimlingen in der 3. bis 4. Woche ihrer Entwicklung der Eiweißzerfall stillsteht, wobei der Eiweißstickstoff ca. 20 % des Gesamtstickstoffs ausmacht. Letztere Größe nähert sich derjenigen, welche die Eiweißstickstoffmenge auch in unseren Keimlingen charakterisiert. Daraus können wir schließen, daß in denjenigen Umwandlungen der letzten Entwicklungsperiode unserer Keimlinge, welche zur Ammoniakspeicherung geführt hatten, die Eiweißstoffe nicht unmittelbar beteiligt waren, und daß diese Umwandlungen sich im Bereich der beim vorhergehenden Eiweißzerfall entstandenen Stickstoffverbindungen abspielten.

Es muß also die Ammoniakbildung auf Kosten der in den Keimlingen vorhandenen Aminosäuren und Amide vor sich gehen. Daß im letzten Versuche mit den hungernden Pflanzen, sowie auch in den Toluol-Versuchen, das Ammoniak nicht nur auf Kosten der Aminosäuren, sondern auch der Amidgruppe des Asparagins gebildet wurde, darauf weist der verhältnismäßig niedrige Amidstickstoffgehalt der Keimlinge.

Für 3- bis 4wöchentliche Keimlinge der gelben Lupine gibt Schulze[1]) ca. 25 %, für 3wöchentliche Keimlinge der blauen

[1]) E. Schulze, Über den Umsatz der Eiweißstoffe in der lebenden Pflanze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 18, 1998, und Über die Bildungsweise des Asparagins in den Pflanzen; Landw. Jahrb. 27, 503, 1898.

Lupine Merlis[1]) ca. 30 % Amidstickstoff (nach Sachsse) an (in Prozent des Gesamtstickstoffs).

Die endgültige Entscheidung der Frage über die Herkunft des Ammoniaks müssen weitere Untersuchungen geben, deren Ausführung beim Benutzen der oben beschriebenen Methode der sterilen Kulturen keine Schwierigkeiten bietet. Wenn dabei die Beteiligung des Asparagins bewiesen werden sollte, so wird damit diejenige Ansicht ihre Bestätigung finden, laut welcher der Eiweißbildung auf Kosten des Asparagins eine Spaltung desselben unter Ammoniakbildung vorhergeht.

Die Meinung, daß bei der Eiweißregeneration auf Kosten des Asparagins letzteres eine vorläufige Spaltung mit Ammoniakbildung erleidet, wobei das Ammoniak als Material für den Aufbau des Eiweißmoleküls fungiert, wurde noch in den 70er Jahren von Mercadante[2]) ausgesprochen. Dafür spricht nach seiner Auffassung die Anwesenheit von Äpfel- und Bernsteinsäure in Wicken, Bohnen und Lupinen, deren Bildung der Verfasser durch die Abspaltung des Ammoniaks vom Asparagin erklärt.

Die Wahrscheinlichkeit einer derartigen Vorstellung von der Umwandlung des Asparagins in Eiweiß wird auch von Schulze[3]) (1878) anerkannt; er bemerkt, daß „es nur schwer verständlich ist, wie so komplizierte Körper (Eiweißstoffe) durch einfache Vereinigung von Asparagin mit stickstofffreien Substanzen entstehen könnten".

Andere Autoren halten im Gegenteil die unmittelbare Beteiligung des Asparagins an der Bildung des Eiweißmoleküls für möglich. So glaubt Sachsse[4]), daß die Umwandlung des Asparagins in Eiweißstoffe durch die Addition von Fettsäurealdehyden zum durch Wasserabspaltung gebildeten Nitril vor

---

1) M. Merlis, Über die Zusammensetzung der Samen und der etiolierten Keimpflanzen von Lupinus angustifolius. Landw. Versuchs-St. 48, 419, 1897.

2) Mercadante, Die Umwandlung des Asparagins der Pflanzen. Ref. aus d. Gaz. chem. ital. in d. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 8, 823, 1875.

3) E. Schulze, Über Zersetzung und Neubildung von Eiweißstoffen in Lupinenkeimlingen, Landw. Jahrb. 7, 411, 1878.

4) R. Sachsse, Über den Zusammenhang von Asparagin u. Proteinsubstanz. Chem. Centralbl. 1876; 584. — Idem, Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteinsubstanzen 1877, S. 254.

sich geht. Nach O. Loews[1]) Ansicht verwandelt sich das Asparagin vorläufig unter Mitwirkung von Kohlenhydraten in das Aldehyd der Asparaginsäure, aus welchem durch Kondensation schließlich Eiweißstoffe entstehen.

Die Theorien Sachsse und Loews sind aber rein spekulativ und entbehren eines jeglichen tatsächlichen Untergrunds. Was die Wahrscheinlichkeit dieser Spekulationen vom chemischen Standpunkt aus betrifft, so behält auch jetzt die oben angeführte Bemerkung Schulzes, daß eine solche Umwandlung des Asparagins in Eiweiß schwer vorstellbar sei, ihre volle Gültigkeit.

Was die Ansicht Mercadantes betrifft, so ist das von ihm entworfene Bild leichter mit den zurzeit bekannten Tatsachen zu vereinigen. Diese Ansicht findet ihre Bestätigung in den oben beschriebenen Versuchen mit Toluol- (und Hunger-) kulturen. An der Bildung des in diesen Keimlingen sich ansammelnden Ammoniaks nahmen nicht nur Aminosäuren, sondern auch das Asparagin teil. Daraus kann man schließen, daß eine derartige Spaltung des letzteren auch in der normalen Pflanze neben seiner Synthese vor sich geht, wobei je nach den Bedingungen bald der eine, bald der andere Vorgang überwiegt. Vielleicht ist der Anhäufungsgrad des Ammoniaks in der Pflanzenzelle eine von den Bedingungen, welche diese Prozesse regulieren, etwa in der Weise, wie der Anhäufungsgrad des Zuckers die Ablagerung und Auflösung der Stärke reguliert.

Die Frage könnte zugunsten einer unmittelbaren Beteiligung des Asparagins an der Eiweißsynthese (ohne vorherige Spaltung bis zum Ammoniak) entschieden werden, wenn der Beweis geliefert wäre, daß auf Kosten des ersteren der Aufbau des Eiweißmoleküls unter sonst gleichen Bedingungen leichter vor sich geht als auf Kosten des letzteren.

Doch dieser Beweis fehlt noch zunächst, und die Versuche Nakamuras[2]), auf welche sich Loew[3]) beruft, scheinen wenig

---

[1]) O. Loew, Die chemische Energie der lebenden Zellen 1899, S. 88 und 1906 (II. Aufl.), S. 57 u. 67.

[2]) T. Nakamura, Über den relativen Nährwert des Asparagins für Phanerogamen, ref. Jahresb. Agrikulturchem. N. F. 20, 282, 1897 (orig. im Bull. of the Coll. of Agric. Imp University Tokyo 2, Nr. 7).

[3]) O. Loew, Die chemische Energie der lebenden Zellen, 1899, S. 78.

überzeugend zu sein. Die schlechte Entwicklung der Pflanzen (Weizen und Zwiebel) in Lösungen von bernsteinsaurem Ammonium im Vergleich zu ihrer Entwicklung in Asparaginlösungen wurde augenscheinlich durch die schädliche Einwirkung des ersteren bedingt; darauf weist das vom Verfasser selbst hervorgehobene Gelbwerden der Blätter bei Pflanzen, welche sich in der Lösung von bernsteinsaurem Ammonium befanden.[1])

[1]) Ebensowenig überzeugend in dieser Beziehung sind auch die Versuche Nakamuras (T. Nakamura, l. c.) mit Pilzen (Penicillium glaucum und Aspergillus niger). In diesen Versuchen erhielt der Verf. beim Darbieten von Äthyl- und Metylalkohol als Kohlenstoffquelle eine bessere Entwicklung der Pilze auf Asparagin, als auf Ammonsalzen (Wein-, Äpfel-, Bernstein-, Milch- und Essigsäure). Auch hier konnte das erhaltene Resultat durch eineNebenwirkung der Ammonsalze bedingt werden. Wie stark eine solche sein kann, ist aus den Angaben Schröders zu ersehen (R. Schröder, Ob die Ammonsalze der Säuren der Essigsäurereihe als N-Quelle für Aspergillus niger dienen können. Journ. f. experim. Landw. 3, 701, 1902, russ.), welcher gezeigt hat, daß die Ammonsalze der Essig-, Ameisen-, Propion- und Valeriansäure schon bei verhältnismäßig kleinen Konzentrationen (0,5—1 %) die Entwicklung des Aspergillus niger stark beeinträchtigen oder sogar vollständig aufheben. Auf solche schädliche Nebenwirkungen sind auch die Resultate der Czapekschen Versuche (F. Czapek, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 538; 2, 557; 3, 47) zurückzuführen, welche ihn zu dem Schluß geführt haben, daß die Ammonsalze der organischen Säuren eine schlechte Stickstoffquelle für Pilze im Vergleich zu den Aminoverbindungen darstellen. Als ganz unzutreffend sind diejenigen Versuchsresultate zu bezeichnen, in welchen organische Stickstoffquellen mit Ammonsalzen solcher Säuren, wie Salz- oder Schwefelsäure, verglichen werden. (Vgl. z. B. H. Pringsheim, Über die Pilzdasamidase. Diese Zeitschr. 12, 20, 1908.) Das Ammoniak wird in sehr verschiedenem Maße verbraucht, je nachdem als welches Salz es benutzt wird. Das ist aus den Versuchen zu sehen, welche in meiner Arbeit: „Umwandlungen der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze“ usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 38, 211, 1903) veröffentlicht wurden. Hier kann ich noch folgende Zahlen anführen, welche ich neuerdings bei vergleichenden Versuchen mit Aspergilluskulturen auf phosphor-, schwefel-, salz- und salpetersaurem Ammon erhalten habe:

Mycelgewicht in g.

Versuch 1.

Rohrzucker 10 % 12 Tage bei 28°	$NH_4H_2PO_4$	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4Cl	NH_4NO_3
	4,33	2,64	1,73	—

Versuch 2.

Rohrzucker 20 % 12 Tage bei 28°	$NH_4H_2PO_4$	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4Cl	NH_4NO_3
	—	6,24	4,72	2,49

Hansteen[1]) konnte bei einer vergleichenden Prüfung des Asparagins und der Ammonsalze als Stickstoffquellen bei der Eiweißsynthese in Pflanzen in keinem Falle eine Bevorzugung des ersteren, und in einigen Fällen sogar eine viel stärkere Eiweißbildung auf Kosten der Ammonsalze beobachten.

Wenn wir eine Spaltung des Asparagins mit Ammoniakbildung in den Pflanzen annehmen, so schließen wir dadurch nicht die Möglichkeit aus, daß neben letzterem auch Asparagin sich am Aufbau der Eiweißstoffe beteiligt. Doch ist die Fähigkeit des Ammoniaks, als Material zum Aufbau des Eiweißmoleküls in der pflanzlichen Zelle auch ohne Bildung von Asparagin als Zwischen- oder Bindeglied zu dienen, kaum einem Zweifel unterworfen.

Darauf weisen u. a. schon die niederen Pflanzen, in welchen Asparagin gar nicht vorkommt. Die Möglichkeit einer unmittelbaren Eiweißbildung aus Ammoniak (unter Verarbeitung von passenden stickstofffreien Körpern) gibt auch Loew[2]) zu. Pfeffer[3]) hält eine solche Umwandlung ebenfalls für möglich. „Es ist," sagte er, „nicht notwendig, daß z. B. Amide als Zwischenstufen zur realen Entstehung kommen, da sehr wohl die im Eiweiß vorhandenen Atomgruppen gleichzeitig mit der Verkettung zum Eiweißmolekül auftreten könnten."

Die Frage über die synthetische Bildung von Amidverbindungen als Zwischenprodukten beim Eiweißaufbau auf Kosten von anorganischen Stickstoffquellen bleibt zunächst noch überhaupt offen. Emmerling[4]), Kellner[5]), Hornberger[6]), Godlewski[7]) geben dieser Frage eine positive Lösung.

---

[1]) R. Hansteen, Über Eiweißsynthese in grünen Phanerogamen. Jahrb. f. wiss. Botan. 33, 417, 1899.

[2]) O. Loew, Die chem. En. d. leb. Zellen 79, 1899; 50, 1906, 2. Aufl.

[3]) W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., 1, 400.

[4]) A. Emmerling, Über die Eiweißbildung in den grünen Pflanzen. Landw. Vers.-St. 24, 113, 1879; 31, 165, 1885; Studien über die Eiweißbildung in der Pflanze. Ibid. 34, 1, 1887; 54, 215, 1900.

[5]) O. Kellner, Untersuchungen über den Gehalt der grünen Pflanzen an Eiweißstoffen und Amiden und über die Umwandlungen der Salpetersäure und des Ammoniaks in der Pflanze. Landw. Jahrb. 8, 243, 1879.

[6]) Hornberger u. Raumer, Chemische Untersuchung über das Wachstum der Maispflanzen. Landw. Jahrb. 11, 359, 1882. — R. Horn-

Aber aus den Tatsachen, auf welche diese Autoren sich stützen, darf man vielleicht auf eine Synthese von Amidverbindungen in der Pflanze schließen, nicht aber behaupten, daß dieselben eine unmittelbar zur Eiweißbildung führende Zwischenstufe vorstellen.[1])

In den Arbeiten der zitierten Autoren fehlt eine genauere Bestimmung derjenigen Verbindungen, welche als erste Umwandlungsprodukte des von der Pflanze aufgenommenen anorganischen Stickstoffs entstehen. Hier mag die interessante Beobachtung Godlewskis[2]) erwähnt werden, laut welcher in Gerstenkeimlingen, welche im Dunkeln auf Zuckerlösungen kultiviert werden, die Eiweißbildung aus Salpeter leichter vor sich geht als die Regeneration der Eiweißkörper aus ihren Spaltungsprodukten. Daraus kann man nach Verf. Meinung schließen, daß die Anfangsprodukte, welche bei der Verarbeitung des Salpeters gebildet werden, mit den Spaltungsprodukten der Eiweißstoffe nicht identisch sind. Vielleicht tritt als solches Zwischenglied bei der Salpeterverarbeitung das durch Reduktion der Salpetersäure entstehende Ammoniak auf, welches auch unmittelbar zum Eiweißaufbau verwandt wird.

---

berger, Untersuchungen über Gehalt und Zunahme von Sinapis alba an Trockensubstanz und chemischen Bestandteilen in 7tägigen Vegetationsperioden. Landw. Vers.-St. 31, 415, 1884.

[7]) E. Godlewski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung aus Nitraten in den Pflanzen. Anzeiger d. Akad. d Wiss. in Krakau 1896, 104.

[1]) Czapek (l. c.) kommt auf Grund von Resultaten welche er bei der Kultur von Schimmelpilzen auf verschiedenen Stickstoffquellen erhielt, zu dem Schluß, daß die Aminosäuren eine Mittelstufe beim Aufbau der Eiweißstoffe aus Ammonsalzen vorstellen. Über diese Schlußfolgerung Czapeks macht Loew die treffende Bemerkung, daß, wenn in vielen — lange nicht in allen — Fällen die Aminosäuren besser als die Ammonsalze verarbeitet werden, man doch nicht unmittelbar schließen kann, daß die Bildung der Aminosäuren die erste Phase der Eiweißbildung vorstelle. (O. Loew, Zur Kenntnis der Eiweißbild. bei d. Pilzen. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 247, 1903).

[2]) E. Godlewski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Extrait du bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie 1903. — Es muß hier betont werden, daß Godlewskis Beobachtung sich nur auf einen Versuch mit Gerstenkeimlingen bezieht, deshalb mißt ihm der Verf. selbst keine entscheidende Bedeutung bei und glaubt, daß er erst durch weitere Versuche bestätigt werden muß.

Die Untersuchungen von Kinoshita[1]) und Suzuki[2]) weisen darauf, daß aus Salpetersäure und Ammoniak unter Mitwirkung von Kohlenhydraten in den Pflanzen Asparagin gebildet wird. Doch, wie wir schon früher gezeigt haben, ist gegenwärtig kein Grund dazu vorhanden, das Asparagin als Zwischenglied bei der Eiweißsynthese zu betrachten, und deshalb können wir Schulzes[3]) Annahme, daß das Asparagin (und Glutamin) schon als Phasen der Eiweißregeneration aufzufassen seien, kaum dem gegenwärtigen Zustand unserer Kenntnisse entsprechend bezeichnen.[4])

Die Bedeutung des Asparagins können wir gegenwärtig nur darin erblicken, daß wir es als zeitweilige Speicherungsform des Ammoniaks ansehen, welches aus verschiedenen Gründen keine Zeit gefunden hat, zum Aufbau der Eiweißstoffe und anderer Stickstoffverbindungen in der Pflanze verbraucht zu werden. Es kann dieses sowohl das von außen in die Pflanze eintretende oder aus der aufgenommenen Salpetersäure gebildete Ammoniak sein, oder auch das in der Pflanze selbst als Endprodukt der regressiven Metamorphose der Stickstoffverbindungen gebildete, — das Ammoniak, dessen unmittelbare Anhäufung im Organismus mit Rücksicht auf seine Schädlichkeit unmöglich erscheint.[5])

---

[1]) Kinoshita, l. c.

[2]) Suzuki, l. c.

[3]) E. Schulze, l. c. Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 75, 1898, und Über die Bildungsweise des Asparagins in den Pflanzen. Landw. Jahrb. 27, 503, 1898.

[4]) Die oben dargestellten Ansichten sind in meiner Anfang 1904 erschienenen russischen Arbeit, „Die regressive Metamorphose der Eiweißstoffe in höheren Pflanzen usw.," entwickelt worden. Am Ende desselben Jahres erschien eine kurze vorläufige Mitteilung von O. Treboux (Zur Stickstoffernährung der grünen Pflanzen, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 22, 570, 1904), in welcher er dieselben Ansichten äußert und auf einige seiner Versuche verweist, welche diese Ansichten stützen sollen. Leider sind die Resultate dieser Versuche bis jetzt unveröffentlicht geblieben.

Indem Verf. in seiner Mitteilung Ansichten entwickelt, welche mit den von mir in der obenerwähnten Arbeit vollkommen übereinstimmen, sagt er, daß dieselben seine „profession de foi ausmachen, von der er sich bei der Anstellung der Versuche leiten ließ", gibt aber nichts über die Quellen an, aus welchen er das Material für diese profession de foi geschöpft hat.

[5]) Diese Ansicht über die Bedeutung des Asparagins wird von O. Loew verfochten (Das Asparagin in pflanzenchem. Bez. Chem.-Zeitg.

Die zur Ammoniakbildung führenden Desamidierungsprozesse.

Wenn wir uns zu den zurzeit bekannten Desamidierungsreaktionen der Aminosäuren wenden, welche zur Bildung von Ammoniak führen, so können wir 3 Typen unterscheiden, nämlich Reaktionen, welche

1. von einer Reduktion,
2. von einer Hydratisierung und
3. von einer Oxydation

begleitet werden.

Der erste Typus tritt uns gewöhnlich bei den Eiweißfäulnisprozessen entgegen,[1]) wenn die beim ursprünglichen Zerfall derselben entstehenden Aminosäuren sich in entsprechende Säuren verwandeln, z. B. Phenylalanin — in Phenylpropionsäure, Tyrosin in Oxyphenylpropionsäure, Leucin — in Capronsäure usw.[2]) Die Reaktion wird durch folgendes Schema ausgedrückt:

$$R{-}CHNH_2{-}COOH + H_2 = R{-}CH_2{-}COOH + NH_3.$$

Die Reaktionen der zweiten Kategorie, welche von einer Hydratisierung begleitet werden, führen zur Umwandlung der

---

1896, Nr. 16, 143; Die chem. En. d. leb. Zellen, 1899, 78, 95, 96). — Indem Loew die Ansicht äußert, daß die Asparaginbildung im Pflanzenkörper, ebenso wie die Harnstoffbildung im Tierkörper, der Anhäufung von Ammoniak und seiner schädlichen Wirkung vorbeugt, verweist er u. a. auf die in seinem Laboratorium ausgeführten Versuche von Takabayashi, welche gezeigt haben, daß in hungernden Pflanzen (d. h. unter für die Asparaginbildung ungünstigen Bedingungen) die giftige Wirkung der Ammonsalze mehr hervortritt als in gut ernährten Pflanzen.

[1]) S. Lafars Handbuch der techn. Mykologie 3, Kap. 4. M. Hahn und A. Spieckermann. Die Proteinfäulnis, S. 103.

[2]) Zur Kategorie der von einer Reduktion begleiteten Desamidierungreaktionen (allerdings mit gleichzeitiger Kohlensäureabspaltung) gehört auch die von Brasch u. Neuberg beschriebene Umwandlung der Glutaminsäure in Buttersäure unter Einwirkung von Fäulnisbakterien. (W. Brasch und C. Neuberg, Biochemische Umwandlung der Glutaminsäure in n-Buttersäure, diese Zeitschr. 13, 299, 1908), sowie auch die von Effront beobachtete Propionsäurebildung unter Einwirkung der Hefe auf Asparagin (J. Effront, Action de la levure de bière sur les acides amidés. Compt. rend. 146, 779, 1908).

Aminosäuren in entsprechende Oxysäuren und können durch folgende Gleichung ausgedrückt werden:

$$R—CHNH_2—COOH + H_2O = R—CHOH—COOH + NH_3.$$

Dieser Fall von Desamidierung findet, wie die Versuche von Neuberg und Langstein[1]) mit Alanin und die von Paul Mayer[2]) mit α-β-Diaminopropionsäure dargetan haben, im Tierkörper statt.

Nach Ehrlich[3]) und Pringsheim[4]) begleitet eine derartige hydrolytische Spaltung von Aminosäuren auch die Bildung des Fuselöls während der Hefegärung, wobei neben der Desamidierung der Aminosäuren, welche das Material für die Alkohole des Fuselöls abgeben, noch Kohlensäure ausgeschieden wird. So wird aus Leuzin Isoamylalkohol gebildet. Das Reaktionsschema läßt sich so ausdrücken:

$$R—CHNH_2—COOH + H_2O = R—CHOH + NH_3 + CO_2.$$

Was die von Oxydation begleiteten Desamidierungsreaktionen betrifft, so ist hier die von Neuberg[5]) und Blumenthal und von Orgler[6]) festgestellte Bildung von Aceton

---

[1]) C. Neuberg und L. Langstein, Ein Fall von Desamidierung im Tierkörper usw. Verhandl. d. Physiol. Ges. 1903, 115, und Arch. f. Anat. u. Phys., Physiol. Abt. 1903, 514. Ref. im Chem. Centralbl. 1903, II, 1453. — Vgl auch Über die Bildung von Rechtsmilchsäure bei der Autolyse der tierischen Organe. T. Kikkōji, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 415, 1907, und K. Inouye und K. Kondo, ibid. 54, 481, 1908.

[2]) Paul Mayer, Über das Verhalten der Diaminopropionsäure im Tierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 59, 1904.

[3]) F. Ehrlich, Über die Bedingungen der Fuselölbildung und über ihren Zusammenhang mit dem Eiweißaufbau der Hefe. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 1027, 1907, und Über die natürlichen Isomeren des Leucins, ibid. 2538. — Idem. Die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung. Diese Zeitschr. 2, 52, 1907.

[4]) H. Pringsheim, Über die Fuselölbildung durch verschiedene Pilze. Diese Zeitschr. 8, 128, 1908. — Idem. Über die Stickstoffernährung der Hefe. Diese Zeitschr. 3, 121, 1907.

[5]) F. Blumenthal und C. Neuberg, Über die Entstehung von Aceton aus Eiweiß. Deutsche med. Wochenschr. 27, 6 (ref. im Chem. Centralbl. 1901, I, 788). — C. Neuberg und F. Blumenthal, Über die Bildung von Isovaleraldehyd und Aceton aus Gelatine. Beiträge z. chem. Physiol. u. Path. 2, 238, 1902.

[6]) A. Orgler, Über die Entstehung von Aceton aus krystallisiertem Ovalbumin. Beiträge z. chem. Physiol. u. Path. 1, 583, 1901.

und Isovaleraldehyd bei Oxydation der Eiweißstoffe mit Wasserstoffsuperoxyd (und Eisen-, Kupfer- und Mangan-Salzen) zu erwähnen. Da diese Reaktion nur bei Anwendung des säurehaltigen Wasserstoffsuperoxyds auftritt, so ist sie nach Neuberg und Blumenthal dadurch zu erklären, daß eine hydrolytische Spaltung der Eiweißmoleküle mit Aminosäurenbildung der Entstehung der oben genannten Produkte vorangeht.

Später hat dann Dakin[1]) nachgewiesen, daß bei der Oxydation der Aminosäuren mit Wasserstoffsuperoxyd Ammoniak, Kohlensäure, Aldehyde und Fettsäuren entstehen und daß bei weiterer Oxydation der letzten auch Aceton sich bildet. Die Reaktion verläuft in ihrem ersten Stadium nach folgender Gleichung:

$$R—CHNH_2—COOH + O_2 = R—COOH + NH_3 + CO_2$$

und

$$R—CHNH_2—COOH + O = R—COH + NH_3 + CO_2.$$

In physiologischer Beziehung bietet diese Reaktion deshalb besonderes Interesse, weil das dieselbe hervorrufende Wasserstoffperoxyd seiner Wirkungsweise nach den in lebenden Zellen wirkenden oxydierenden Agenzien nahe steht.

Zu den Reaktionen dieser Kategorie gehört wahrscheinlich diejenige, welche die Umwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure im Tierkörper zur Folge hat.[2])

Hierher müssen vielleicht auch einige von Fäulnisbakterien hervorgerufene Umsetzungen gerechnet werden, welche zur

---

[1]) H. D. Dakin, The Oxydation of leucin, α-amido-isovalerie acid and of α-amido-n-valerie acid with hydrogen peroxyde. Journ. of Biolog. Chem. 4, 63, 1908.

[2]) M. Wolkow u. E. Baumann, Über das Wesen der Alkaptonurie. Zeitschr. f. physiol. Chem. 15, 228 (272), 1891. O. Neubauer und L. Flatow, Synthesen von Alkaptonsäuren. Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 375, 1907. Nach W. Falta und L. Langstein (Die Entstehung von Homogentisinsäure aus Phenylalanin. Ibid. 37, 513, 1903) kann im Tierkörper auch Phenylalanin als Material zur Bildung der Homogentisinsäure dienen. — Die Angabe Bertels (Über Tyrosinabbau in Keimpflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 20, 454, 1902) auf eine analoge Umwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure in Pflanzen konnte durch die Untersuchungen E. Schulze und N. Castoros (Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 396, 1906) keine Bestätigung finden.

Bildung von Bernsteinsäure aus Glutaminsäure,[1]) Valeriansäure aus Leucin[2]) usw. führen.

Wir können hier die auch vom pflanzenphysiologischen Standpunkte beachtenswerten Ergebnisse der Neubergschen[3]) Untersuchungen über katalytische Reaktionen des Sonnenlichtes nicht unerwähnt lassen. Unter anderem ist durch diese Untersuchungen festgestellt, daß das Sonnenlicht bei Gegenwart von Uransalzen eine Desamidierung der Aminosäuren unter Freiwerden von Ammoniak hervorruft. Die Umwandlung wird dabei von Oxydationsvorgängen begleitet und führt zur Bildung von Aldehyden. So entsteht z. B. aus Alanin Acetaldehyd.

Die Frage, welche von den erwähnten Typen die in unseren Versuchen mit Keimlingen konstatierte Desamidierungsreaktion gehört, läßt sich vorderhand noch nicht mit voller Bestimmtheit beantworten. Auf Grund der Versuche mit Toluol im sauerstofffreien Raume kann man aber annehmen, daß die in unseren Versuchen beobachtete Desamidierung mit Oxydationsvorgängen verknüpft ist. Dafür sprechen auch die negativen Resultate, zu welchen Versuche geführt haben, die Desamidierung durch Autolyse der getrockneten und zerriebenen Pflanzensubstanz herbeizuführen.

Der Versuch, diese Frage experimentell zu prüfen, wurde von mir schon 1903 ausgeführt und die Resultate 1904 in meiner russischen Arbeit: „Die regressive Metamorphose der Eiweißstoffe in den höheren Pflanzen und die Beteiligung des proteolytischen Enzyms an diesem Vorgange“ mitgeteilt.

Beim Aufstellen meiner Versuche ging ich von den Ergebnissen Jacobys[4]) aus, welcher gezeigt hatte, daß bei der Autolyse des zerriebenen Lebergewebes die Umwandlung der Eiweißstoffe von der Bildung einer viel größeren Ammoniak- und Amidstickstoffmenge begleitet wird, als die Spaltung derselben Eiweißstoffe durch Kochen mit starker Salzsäure, d. h. daß es

[1]) W. Brasch u. C. Neuberg, l. c.

[2]) M. Hahn u. A. Spieckermann, l. c.

[3]) C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. I. Mitteil. Katalytische Reaktionen des Sonnenlichtes. Diese Zeitschr. 13, 305, 1908.

[4]) M. Jacoby, Über die fermentative Eiweißspaltung und Ammoniakbildung in der Leber. Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 179, 1900.

von einer Verwandlung „von festgebundenem Stickstoff in locker gebundenen“ begleitet wird.

Zur vorläufigen Orientierung über die Möglichkeit einer derartigen Umwandlung auch bei der Autolyse pflanzlicher Gewebe, benutzte ich zuerst die Ergebnisse meiner Versuche über die Autolyse der gekeimten Samen.[1]) Die bei diesen Versuchen erhaltenen Mengen des leicht abspaltbaren Amid- und Ammoniakstickstoffs in Prozenten des Stickstoffs der bei der Autolyse gespaltenen Eiweißstoffe werden durch folgende Zahlen ausgedrückt:

Keimlinge von Lupinus augustifolius Autolyse mit Thymol			Keimlinge von Lupinus luteus Autolyse mit		Kotyledonen von Vicia Faba Autolyse mit
			Chloroform	Thymol	Thymol
a	c	f	k	k	h
10,1	10,7	15,8	14,3	17,1	15,7

Diese Zahlen können, da sie aus geringen Größen berechnet sind, keine große Genauigkeit beanspruchen, und man kann ihrer Zusammenstellung mit den Zahlen, welche die Menge des als Ammoniak beim Eiweißabbau durch Säuren freiwerdenden Stickstoffs ausdrücken, keine entscheidende Bedeutung für die Lösung der oben aufgestellten Frage beimessen. Doch genügt schon ein solcher Vergleich, um zu sehen, daß eine Umwandlung im erwähnten Sinne in größerem Maßstabe jedenfalls nicht stattfindet. Nach Boßhard entweichen bei der Spaltung des aus Lupinensamen gewonnenen Konglutins 13 % ihres Stickstoffs als Ammoniak.[2]) Von dieser Größe weichen auch die aus meinen Versuchsresultaten berechneten nicht besonders stark ab.

Um eine bestimmtere Antwort auf die uns beschäftigende Frage zu erhalten, wurde ein

---

[1]) Wl. Butkewitsch, Über das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms in gekeimten Samen und über seine Wirkung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 1, 1901.

[2]) Diese Größe ist Schulzes Aufsatz in Landw. Jahrb. 14, 713, 1885 entnommen. — Die von Kossel und Kutscher bei der Spaltung einiger pflanzlicher Eiweißstoffe (Glutencasein, Glutenfibrin, Mucedin, Gliadin, Zein) erhaltenen diesbezüglichen Zahlen schwanken zwischen 13 bis 20 %. A. Kossel und F. Kutscher, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 165, 1900—1901.

Versuch mit Lupinenkeimlingen

ausgeführt, welcher dem von Jacoby mit der Leber gemachten entsprach. Zu diesem Versuche wurden vier gleiche Portionen (zu je 3 g) bei ca. 40° getrockneter und zerriebener 4 tägiger Keimlinge von Lupinus luteus genommen. Die abgewogene Substanz wurde in 4 Kolben verteilt und in jeden Kolben eine gleiche Menge Wasser gegossen. Der Inhalt zweier Kolben wurde für kurze Zeit auf 100° erhitzt und darauf in alle Kolben eine gewisse Menge von fein zerriebenem Thymol und so viel Blausäure hinzugefügt, daß ihr Gehalt in der Flüssigkeit 0,1°/₀ betrug. Dann wurden die Kolben mit Stopfen verschlossen und in einen Thermostat bei 35 bis 40° gestellt. Nach 5 Tagen wurde der mit Magnesia abdestillierbare Stickstoff bestimmt, und zwar in einem Paar Kolben (erhitzt und unerhitzt) unmittelbar, im anderen nach 8 stündigem Kochen mit konzentrierter Salzsäure nach Hausmann.[1]) Bei diesen Bestimmungen wurde gefunden:

	Ammoniak-N, mit MgO abdestillierbar	
	erhitzt	nicht erhitzt
unmittelbar	4,57 mg	11,21 mg
nach Kochen mit HCl . .	36,74 mg	38,50 mg

In unserem Autodigestionsversuche bildete sich also Ammoniak oder Verbindungen, welche beim Kochen mit MgO-Ammoniak abspalteten, doch fand dabei, wie aus dem Vergleich der durch Kochen mit Salzsäure erhaltenen Daten erhellt, keine Umwandlung des festgebundenen Stickstoffs in locker gebundenen statt.

Der erste Teil dieser Ergebnisse, nämlich die Bildung einer gewissen Menge Ammoniak bei der Autolyse wurde neuerdings von Castoro[2]) und Zaleski[3]) nachgewiesen. Aber diese Autoren lassen die Frage über den Ursprung des in ihren Versuchen in kleinen Mengen gebildeten Ammoniaks offen. Jedenfalls haben

---

[1]) Hausmann, Über die Verteilung des Stickstoffs im Eiweißmolekül. Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 95, 1899.

[2]) N. Castoro, Über das Vorkommen von Ammoniak in Keimpflanzen und über seine Bildung bei der Autolyse solcher Pflanzen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 525, 1897. Castoro bestimmte das Ammoniak nach der Methode von A. Longi (Landw. Vers.-St. 32, 15, 1886).

[3]) W. Zaleski, Über die autolytische Ammoniakbildung in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 25, 357, 1907. — Die Ammoniakbestimmung wurde nach Boßhard ausgeführt.

wir gar keinen Grund dazu, seine Bildung der Desamidierung der in den Keimlingen enthaltenen oder dem Eiweißmolekül angehörenden und bei seiner autolytischen Spaltung freiwerdenden Aminosäuren zuzuschreiben.

Aus meinem Versuch (dessen Resultate schon 1904 veröffentlicht waren) ist zu ersehen, daß in Bedingungen, welche bei den entsprechenden Versuchen von Castoro und Zaleski herrschten, eine solche Desamidierung nicht stattfindet. Die Menge des bei ihren Versuchen gebildeten Ammoniaks ist so unbedeutend, daß seine Bildung vollständig auf Rechnung des Eiweißamidstickstoffs werden kann, welcher bei der primären hydrolytischen Spaltung des Eiweißmoleküls als Ammoniak frei wird.[1])

Das Ammoniak wird bei einer derartigen Spaltung des Eiweißmoleküls, wie bekannt, nicht nur unter der Einwirkung von Säuren, sondern auch unter dem Einfluß von proteolytischen Enzymen, z. B. Trypsin[2]), Erepsin[3]) und sogar Pepsin[4]) frei. Der Tätigkeit des proteolytischen Enzyms kann auch die bei den autolytischen Versuchen mit Keimlingen beobachtete Ammoniakbildung zugeschrieben werden.

---

[1]) „Es bleibt zunächst unentschieden — sagt Zaleski (l. c.) über seine Versuche — ob das in unseren Versuchen gebildete Ammoniak direkt aus Eiweißstoffen oder aus den primären Zersetzungsprodukten derselben gebildet worden war." Diese Frage ist, wie aus den oben angeführten Tatsachen zu ersehen ist, durch meinen Versuch entschieden, dessen Resultate drei Jahre vor dem Erscheinen der Arbeit von Zaleski publiziert worden sind.

[2]) A. Hirschler, Bildung von Ammoniak bei der Pankreasverdauung von Fibrin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 302, 1886. — E. Stadelmann, Bildung von Ammoniak bei Pankreasverdauung von Fibrin. Zeitschr. f. Biol. 14 (N. F. 6), 261, 1887. — S. Dziergowski und S. Salaskin, Über die Ammoniakabspaltung bei der Einwirkung von Trypsin und Pepsin auf Eiweißkörper. Centralbl. f. Physiol. 15, 249, 1901. — J. Mochizuki, Zur Kenntn. der trypt. Eiweißspaltung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 45, 1901.

[3]) O. Cohnheim, Weit. Mitt. über das Erepsin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 134, 1902.

[4]) E. Zunz, Über den quantit. Verlauf der peptischen Eiweißspaltung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 132, 1899. Idem, Weit. Unters. über den Verlauf der peptischen Eiweißspaltung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 435, 1902. — S. Dziergowski und S. Salaskin, l. c.

Wenn bei der Autolyse tierischer Gewebe, wie durch die obenerwähnten Versuche Jacobys mit Leber und anderer Autoren mit anderen Organen festgestellt worden ist, eine Abspaltung des festgebundenen Eiweißstickstoffs in Form von Ammoniak beobachtet wird, so scheint diese Umwandlung, wie das schon Jacoby betont hat, nicht mit den durch proteolytische Enzyme hervorgerufenen Vorgängen zusammenzuhängen, sondern durch die Wirkung eines besonderen desamidierenden Enzyms bedingt zu sein.[1]) Die Anwesenheit eines solchen Enzyms in tierischen Geweben ist in der Tat durch die Versuche von Lang[2]) erwiesen worden, welcher bei der Untersuchung verschiedener Organe die Abspaltung von NH_3 sowohl aus Amiden als auch aus Aminosäuren feststellen konnte. Analoge Versuche mit pflanzlichen Organen haben bis jetzt zu keinem klaren positiven Resultat in bezug auf Aminosäuren geführt. Shibata[3]) konnte in seinen Versuchen mit zerkleinertem Mycel (mit oder ohne Acetonbearbeitung) des Aspergillus niger, welcher durch ein energisches Abspaltungsvermögen sowohl des Amid-, als auch des Aminostickstoffs in Ammoniakform ausgezeichnet ist, eine nennenswerte Ammoniakbildung nur aus Amidverbindungen konstatieren; mit Aminosäuren erhielt er dagegen in den meisten Fällen ganz negative Resultate, und nur in den Versuchen mit Alanin und Tyrosin wurden kleine Ammoniakmengen erhalten. Das gleiche negative Resultat wurde für Aminosäuren auch von Ehrlich[4]) und Pringsheim[5]) in ihren Versuchen mit Aceton-

[1]) Das bei der Autolyse der tierischen Organe sich bildende Ammoniak kann nicht nur von der Desamidierung der Aminosäuren, sondern zum Teil auch von der Umwandlung abstammen, die dabei die Purinbasen, Nucleinsäuren usw. erleiden. — Vgl. R. Gottlieb und R. Stangassinger, Über das Verhalten des Kreatins bei der Autolyse. Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 1, 1907. — R. Stangassinger, ibid. 55, 285, 1908. — A. Schittenhelm, Über die Fermente des Nucleinstoffwechsels, ibid. 57, 21, 1908. — A. Rothmann, Über das Verhalten des Kreatins bei der Autolyse, ibid. 57, 131, 1908.

[2]) S. Lang, Über Desamidierung im Tierkörper. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 321, 1904.

[3]) K. Shibata, Über das Vorkommen von Amide spaltenden Enzymen bei Pilzen. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 384, 1904.

[4]) F. Ehrlich, Zur Frage der Fuselölbildung der Hefe. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 4072, 1906.

[5]) H. Pringsheim, Über Pilzdesamidase. Diese Zeitschr. 12, 15,

präparaten und Preßsaft aus Hefe- und Schimmelpilzen erhalten, wogegen die zu diesen Versuchen dienenden Organismen eine deutliche Desamidierungsfähigkeit aufweisen.[1])

Bei allen eben erwähnten Versuchen gingen ihre Autoren augenscheinlich von der Voraussetzung aus, daß die Wirkung der desamidierenden Enzyme auf eine Hydratisierung hinausläuft.

Das negative Resultat könnte dadurch bedingt sein, daß die Versuchsbedingungen der Tätigkeit des gesuchten Enzyms hinderlich waren (diese Bedingungen konnten in der vorhergehenden Behandlung, in der Benutzung von Antisepticis usw. liegen), oder dadurch, daß die Desamidierung mit Oxydationsprozessen verbunden ist, deren Möglichkeit durch die Versuchsanstellung selbst ausgeschlossen war.

Daß in höheren Pflanzen der Desamidierungsvorgang von einer Oxydation begleitet wird, das beweisen meine oben beschriebenen Versuche mit Lupinenkeimlingen. Für Aspergillus niger habe ich ebenfalls gezeigt,[2]) daß in Peptonkulturen dieses Pilzes die Verhinderung des Sauerstoffzutritts die Ammoniakbildung hemmt und zu einer Anhäufung von Aminosäuren führt.[3])

1908. S. auch da die Hinweise auf einige diesbezügliche Versuche Abderhaldens, welche ebenfalls zu einem negativen Resultate führten. sowie auch Abderhalden und Baumann, Über die Spaltung einiger Polypeptide durch den Preßsaft von Psalliota campestris (Champignon). Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 395, 1908.

[1]) Vgl. C. Wehmer, Entstehung und physiol. Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. Botan. Zeitung 1891, 233. — E. Marchal. The production of ammonia in the soil by microbes. Agricult. Science 8, 574, 1894 (ref. im Centralbl. f. Bakt. [II], 1, 753, 1905). — W. Butkewitsch, Umwandlung der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze usw. Jahrb. f. wiss. Bot. 38. 147, 1902. — J. Effront, Action de la levure de bière sur les acides amidés. Compt. rend. 146, 779, 1908.

[2]) Wl. Butkewitsch, Umwandlung der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze usw. Jahrb. f. wiss. Bot. 38, 147, 1902.

[3]) Völlig unverständlich bleibt mir die von Shibata in seiner Arbeit über die desamidierenden Enzyme gemachte Bemerkung, daß meine Untersuchungen über die Ammoniakbildung durch Aspergillus niger aus Eiweißstoffen und Aminosäuren die Frage unentschieden lassen, „ob diesem Prozeß eine oxydative oder enzymatische Tätigkeit zugrunde liegt". Erstens enthalten meine Versuche einen ganz klaren Beweis für die Bedeutung der Oxydation in diesem Prozeß, zweitens ist die Gegenüberstellung der oxydativen und enzymatischen Tätigkeit sonderbar, da auch die oxydative Tätigkeit durch ein Enzym bedingt sein kann.

Freilich ist die Oxydation, wie schon aus den obenerwähnten Fällen der Desamidierung bei Fäulnis und Fuselölbildung hervorgeht, keine unumgängliche Begleiterscheinung der in den Pflanzen stattfindenden Desamidierungsprozesse. Es ist möglich, daß in ein und denselben Zellen diese Prozesse auf verschiedene Weise je nach dem Charakter der zu desamidierenden Verbindungen verlaufen: die Aminosäuren können z. B. unter Oxydation, und die Amide durch Hydratisierung desamidiert werden. Vielleicht wird durch diesen Umstand in den Versuchen Shibatas[1]) mit Aspergillus niger das positive Resultat für Amidverbindungen und das negative für Aminosäuren bedingt. Daß die Desamidierungsprozesse verschiedener Amid- und Aminoverbindungen gewisse individuelle Verschiedenheiten aufweisen, darauf deuten auch die von Lang[1]) erhaltenen Resultate.

Die endgültige Entscheidung der hier berührten Fragen soll die Aufgabe weiterer Forschung bilden.

---

[1]) l. c.

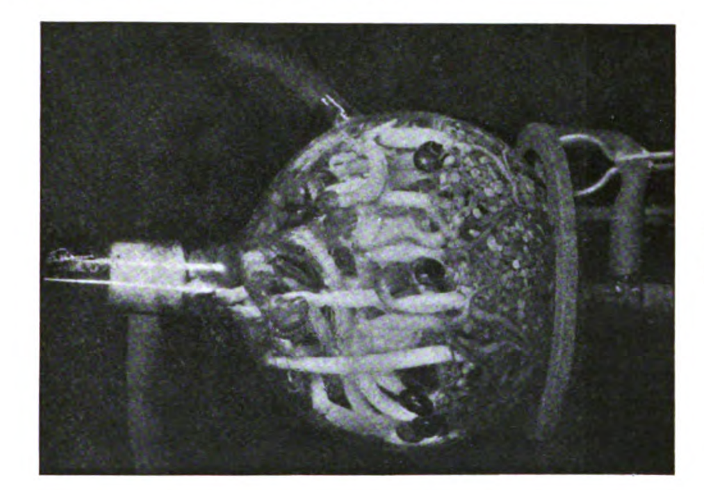


Fig. 5.

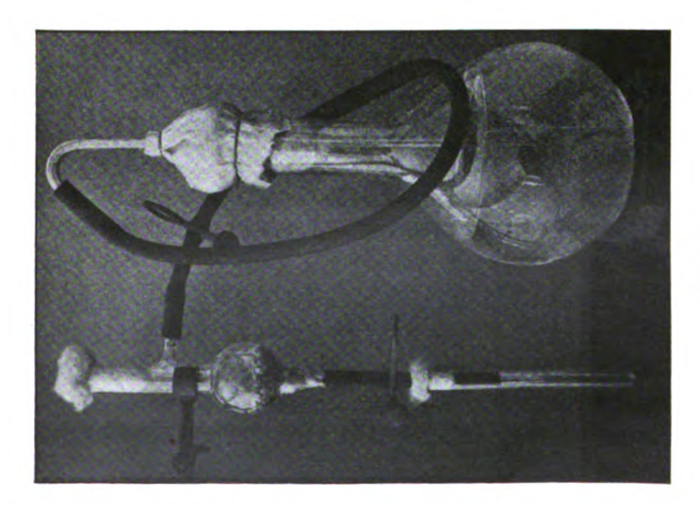


Fig. 4.

Zur Kenntnis des Fett- und Kalkstoffwechsels im Säuglingsalter.

Von

Walther Freund, Breslau.

(Eingegangen am 17. Februar 1909.)

Die Untersuchungen, über die hier berichtet werden soll, sind zum Teil bereits vor mehreren Jahren ausgeführt, aber bisher aus äußeren Gründen noch nicht ausführlich veröffentlicht worden. Da ich indessen Gelegenheit hatte, auf die Resultate derselben in einer Anzahl wesentlicher Punkte an zwei Stellen[1]) einzugehen, an denen die gleichzeitige Veröffentlichung des Versuchsmaterials selbst nicht angängig war, bin ich veranlaßt, nunmehr auf dieses letztere hier noch besonders zurückzukommen, zumal ähnliche Untersuchungen bisher in der Literatur nicht vorliegen. Der Hinweis auf die beiden genannten Publikationsortee[1]) wird bei der unten folgenden Besprechung der Versuchsergebnisse eine entsprechend kurze Fassung ermöglichen.

Der Ausgangspunkt für meine Untersuchungen war einerseits die damals noch offene Frage, inwieweit bei den Ernährungsstörungen des Säuglings, speziell der von Czerny-Keller als Milchnährschaden beschriebenen Form, ein quantitatives Daniederliegen der Fettresorption mit im Spiele ist. In engem Zusammenhange hiermit stand der weitere Gesichtspunkt, ob das aus der Klinik her wohlbekannte Symptom der vermehrten Ausscheidung insbesondere unlöslicher Seifen im Stuhl — ich

[1]) Milchnährschaden und Fettresorption. Vortr. auf der Dresdener Tagung der fr. Verein. f. wissensch. Pädiatrie 1907. — Physiologie und Pathologie des Fettstoffwechsels im Kindesalter. Ergebn. der inneren Medizin und Kinderheilk. 3, 1909.

habe dafür in meinem Vortrag (l. c.) die kurze Bezeichnung „graue Obstipation“ gewählt — mit einer Verschlechterung der Resorptionsgröße für Fett einhergeht.

Jede hierauf abzielende Versuchsanordnung mußte sich nun naturgemäß des Einflusses der übrigen Nahrungsbestandteile auf die Seifenausscheidung bedienen, von denen wir vom Krankenbette her wissen, daß Eiweiß und mäßige Mehlmengen das Zustandekommen grauer Obstipation begünstigen, während die verschiedenen Zucker sowie Zugabe von oleinreichen Fetten derselben mehr oder minder entgegenwirken. Es gipfelte also schließlich der Versuchsplan in dem Studium des Einflusses der verschiedenen Nahrungsstoffe auf die Fettresorption bzw. auf die bekanntlich durch ihre Rückwirkungen auf den Mineralstoffwechsel bedeutungsvolle Seifenausscheidung.

Ich lasse nunmehr zunächst eine Übersicht über die Versuche selbst folgen. (Dieselben wurden auf der Säuglingsabteilung des städtischen Kinderhorts ausgeführt; die Aufarbeitung des Versuchsmaterials geschah im Laboratorium der Universitäts-Kinderklinik.)

Versuch Otto Scholz.

a) Vorgeschichte.

Otto Scholz wurde am 24. Sept. 1904 im Alter von 8 Monaten mit einem Körpergewicht von 3720 g in den städtischen Kinderhort eingeliefert. Befand sich angeblich bis dahin im Kinderasyl der Stadt Berlin, woselbst er bis zur Überführung nach Breslau gestillt worden sein soll. Hier zunächst bei Buttermilch gute Zunahme (25. Sept. bis 3. Okt.), erkrankt dann bei Überführung auf Vollmilch (mit Mehl und Zucker) unter Fieber, Körpergewichtsabsturz auf 3180 g und häufigen hellen Stühlen und wurde vom 11. Okt. an an der Brust ernährt, trank bald große Mengen, nahm vom ersten Tage an stark zu und zeigte rasche Besserung seines ganzen Verhaltens. Am 23. Okt. Allaitement mixte mit 1 mal Buttermilch begonnen, bald 2 mal Buttermilch und 1 mal Reis. Vom 10. Dezember an (Körpergew. 4140 g) keine Brust mehr, sondern 5 Mahlzeiten à 180 g $^1/_2$ Milch mit Mehl und Zucker. Hierbei 1 mal täglich zur selben Stunde eine reichliche geformte, hellgelbe Stuhlentleerung von erheblichem Fäulnisgeruch und alkalischer Reaktion.

b) Kotbildung.

Während Periode I (Milch — Mehl — Zucker) ist die Kotbildung wie in der Vorperiode, in der Periode II (Milch — Wasser) ähnlich, nur deutlich retardiert, so daß der Stuhl des dritten Tages erst nach Schluß des Versuches abgewartet werden muß.

c) Alle übrigen Angaben vgl. Tabelle Otto Scholz.

Tabelle Otto Scholz.

I. Periode (1/2 Milch mit Mehl und Rohrzucker).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: Fettzufuhr	Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Urinmenge	Kot: Menge (trocken)	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	Fettresorption %	Körpergewicht
											4210
1.	899,5	15,29	27,0	54,0	370						4190
2.	915,5	15,55	27,46	54,9	460						4280
3.	894,0	15,2	26,8	53,6	410						4280
im Mittel	903,0	15,35	27,09	54,18	413	5,3652	0,8416	0,4194	49,8	94,5	+ 23,3
II. Periode (1/2 Milch mit Saccharinwasser).											
											4200
1.	912	14,59	—	—	570						4170
2.	961	15,38	—	—	470						4150
3.	922	14,75	—	—	540						4130
im Mittel	931,2	14,9	—	—	526,6	5,5615	1,0878	0,5771	53,1	90,8	— 23,3

Versuch Martha Scholz.

a) Vorgeschichte.

Martha Scholz wurde ohne Anamnese im Alter von 6 Wochen mit einem Körpergewicht von 3420 g am 29. VIII. 04 in den städtischen Kinderhort aufgenommen. Es war ein anscheinend gesundes Kind, das zunächst bei Allaitement mixte mit 1/3 Milch an Körpergewicht abnahm und dann am 7. IX. (Körpergew. 3300 g) zu ausschließlicher Brusternährung übergeführt wurde. Hierbei gutes Gedeihen, desgl. auch bei Einführung einer Mahlzeit Buttermilch (28. IX.). Vom 11. X. (Körpergew. 3730 g)

bis 6. XI. (Körpergew. 3890 g) wurde das Kind allmählich auf 2 mal Buttermilch und 3 mal Vollmilch mit Mehl und Zucker abgesetzt. Während der zweiten Hälfte des November fieberhafte Erkrankung der oberen Luftwege mit vorübergehendem Körpergewichtsrückgang. Am 10. XII. (Körpergew. 4200 g) wird zu 5 × 150 g $^1/_2$ Milch mit Mehlsuppe und Zucker übergegangen. Dabei 1 bis 2 mal täglich Stuhl.

b) Kotbildung.

Periode I (Milch — Mehl — Zucker).

1. Tag 3 mal gebunden, hellbraungelb, stinkend.

2. Tag 1 mal kleiner trockner Kotballen. 1 mal voluminöser, fast geformter, stinkender, hellbraungelber Stuhl. 1 mal dito.

3. Tag 3 mal Stuhl, wie die vorhergehenden.

In Periode II (Milch — Wasser) im allgemeinen wie in Periode I, nur heller und mehr grau.

c) Alle übrigen Angaben vgl. Tabelle Martha Scholz.

Tabelle Martha Scholz.

I. Periode ($^1/_2$ Milch mit Mehl und Rohrzucker).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: Fettzufuhr	Nahrung: Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Nahrung: Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Kot: Menge (trocken)	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Kot: Letzteres in % vom Gesamtfett	Fettresorption %	Körpergewicht
										4200
1.	744,5	12,66	22,33	44,66						4160
2.	735,0	12,50	22,05	44,1						4170
3.	727,5	12,37	21,82	43,65						4130
im Mittel	735,3	12,5	22,06	44,13	7,9658	2,148	0,7863	36,6	81,8	— 23,3

II. Periode ($^1/_2$ Milch mit Saccharinwasser).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: Fettzufuhr	Nahrung: Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Nahrung: Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Kot: Menge (trocken)	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Kot: Letzteres in % vom Gesamtfett	Fettresorption %	Körpergewicht
										4120
1.	748	11,97	—	—						4130
2.	763	12,21	—	—						4100
3.	758	12,12	—	—						4080
4.	766	12,26	—	—						4080
im Mittel	758,7	12,14	—	—	3,8518	0,9200	0,4005	43,5	92,4	— 10

Versuch Max Jockisch.

a) Vorgeschichte.

Max Jockisch wurde am 17. Oktober 1904 im Alter von 8 Wochen mit einem Körpergewicht von 5020 g in den städtischen Kinderhort eingeliefert, und zwar in üppigem Ernährungszustande und abgesehen von einem Vierziger frei von pathologischen Erscheinungen. Anscheinend bis dahin fast ausschließlich an der Brust ernährt. Im Kinderhort erhielt das Kind zunächst 5 × 150 g $^{2}/_{3}$ Milch mit Wasser und pro die 60 g Nährzucker. Am 24. X. akute Erkrankung an einer damals epidemischen Angina (39,2). Noch am selben Tage wurde Brusternährung eingeleitet. Hierbei ging unter subfebrilen Temperaturen bei starker Anorexie das Körpergewicht rapide herab. Während der ganzen Zeit täglich zwei schöne Brustmilchstühle, vom 4. XI. an normale Temperatur. Vom 10. XI. an eine Mahlzeit Buttermilch, wobei das bis auf 3990 g heruntergegangene Körpergewicht etwa 14 Tage lang stationär bleibt, um dann ohne Nahrungsänderung regelmäßig zuzunehmen. Am 9. XII. (Körpergew. 4200 g) wird wieder zu ausschließlicher Brusternährung übergegangen. Am 12. XII. Beginn des Versuches.

b) Kotbildung.

In Periode I bei ausschließlicher Brusternährung 3 bis 4mal täglich reichlicher, saurer, goldgelber, manchmal nicht ganz homogener Stuhl.

In der darauffolgenden Zwischenperiode und der Periode II bei Einführung einer Mahlzeit Buttermilch war die Kotbildung nicht wesentlich verändert (am zweiten Tage der Periode II erfolgten sogar sechs Stuhlentleerungen), nur war der Stuhl stets homogen.

c) Bald nach diesen Versuchen wurde das Kind aus dem städtischen Kinderhort nach der Königlichen Kinderklinik verlegt, woselbst es bald darauf wieder an einer schweren Angina erkrankte, sich bei ausschließlicher Brusternährung wiederum von seinem Gewichtsrückgang rasch erholte. In dieser Zeit trat aber eine Stuhlbeschaffenheit auf, wie sie etwa der Fettdiarrhöe (Biedert) entspricht. Der Stuhl wurde hellgelb, stark

fettglänzend und zeigte mikroskopisch ziemlich reichliche Fetttröpfchen. Die Reaktion war stark sauer.

Es wurde wegen dieser bemerkenswerten Stuhlveränderung am 25. I. 05 auf der Kinderklinik nochmals bei ausschließlicher Brusternährung ein viertägiger Stoffwechselversuch angestellt, währenddessen die Kotbildung sich auch weiter wie angegeben verhielt.

d) Alle näheren Angaben vgl. Tabelle Max Jockisch.

Tabelle Jockisch.

I. Periode (Brustmilch).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: N-Zufuhr	Nahrung: Fettzufuhr	Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Urin	Kot: Menge (trocken)	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Letzteres in %v.Ges.-Fett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	504,5	0,6868	17,4	—	—	200	—	—	—	—	—	4140
2.	662,0	0,9012	22,9	—	—	355	—	—	—	—	—	4170
3.	621,0	0,8454	21,5	—	—	315	—	—	—	—	—	4140
												4210
im Mittel	595,8	0,8111	20,6	—	—	290	6,076	0,9756	0,349	35,87	95,3	+ 23,3

II. Periode (4 mal Brustmilch, 1 mal Buttermilch).

Versuchstag	Menge	N-Zufuhr	Fettzufuhr	Mehl	Zucker	Urin	Menge (trocken)	Gesamtfett	Seifenfett	Letzteres in %v.Ges.-Fett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	497 + 148	—	18,8	2,25	9,0	340	—	—	—	—	—	4220
2.	494 + 153	—	18,7	2,25	9,0	330	—	—	—	—	—	4290
3.	561 + 156	—	21,2	2,25	9,0	385	—	—	—	—	—	4330
												4380
im Mittel	517,3 + 152,3	1,465	19,6	2,25	9,0	351,7	5,6449	0,9149	0,263	28,74	95,3	+ 53,3

III. Periode (Brustmilch).

Versuchstag	Menge	N-Zufuhr	Fettzufuhr	Mehl	Zucker	Urin	Menge (trocken)	Gesamtfett	Seifenfett	Letzteres in %v.Ges.-Fett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
												4150
1.	795,7	—	25,7	—	—	432	—	—	—	—	—	—
2.	772,1	—	25,0	—	—	417	—	—	—	—	—	—
3.	684,6	—	22,1	—	—	399	—	—	—	—	—	—
4.	790,9	—	25,6	—	—	440	—	—	—	—	—	4250
im Mittel	760,9	—	24,6	—	—	422	4,4728	1,7067	0,6074	35,6	93,1	+ 25

Versuch Curt Helm.

a) Vorgeschichte.

Curt Helm, in der Frauenklinik geboren und dort bis 5 Wochen künstlich ernährt, kam in diesem Alter in den städtischen Kinderhort. Körpergewicht bei der Aufnahme am 26. September 1905: 3120 g. Mageres Kind mit schlechten Farben, negativem Organbefund. Zunächst bei 3 mal Brust, 2mal $^1/_3$ Milch mit Haferschleim Körpergewichtsabnahme um 600 g in 14 Tagen. Von nun an bei ausschließlicher Brusternährung sofortige Zunahme und Gedeihen. Nach 3 Wochen Allaitement mixte mit Buttermilch (bis zu 3 Mahlzeiten à 120 g von der letzteren). Auch hierbei glänzende Zunahme: von 2530 g am 10. September bis 3740 g am 4. November. — Gute Farben, Turgor, Tonus, Agilität. Vorübergehend Vierziger und Kopfekzem. Neigung zu grauen geformten Stühlen. Am 4. November werden die letzten beiden Brustmahlzeiten durch je 120 g $^1/_3$ Milch mit Haferschleim ersetzt; vom 17. November an erhält das Kind die Nahrung der ersten Versuchsperiode, 700 g $^1/_2$ Milch mit Mehlsuppe in 5 Mahlzeiten. Dabei 1 mal täglich graugelber Seifenstuhl.

Alter zu Beginn des Versuches am 20. November 4 Monate.

b) Kotbildung.

Periode I (Milch—Mehl).

Es wurde entleert:

1. Tag 1 × 10 g Kot (feucht),
2. „ 1 × 10 g „ „
3. „ 1 × 10 g „ „

durchgängig graugelb, stinkend, alkalisch, hart geformt; mikroskopisch frei von Fetttröpfchen. Nach Jacobson[1]): rosa Schollen.

Periode II (Milch—Wasser).

Gut gelungene Abgrenzung mit Tierkohle. Stuhl zunächst wie in Periode I, nur etwas härter und grauer. Am 3. Versuchstage erst dickbreiiger, nur noch teilweise geformter Stuhl, dann mehrere dünnbreiige Entleerungen. Die Kotabgrenzung

---

[1]) Sur une réaction colorante des acides gras. La presse médicale 1906, No. 1ff (vgl. auch W. Freund a. a. O.).

am Schluß ($^{3}/_{4}$ g Tierkohle) erscheint bereits 6 Stunden später, trotz der dünnen Beschaffenheit des Kotes fast auf eine einzige tiefschwarz gefärbte Entleerung konzentriert.

Kotmengen (feucht) 1. Tag 2× zusammen 25 g,
2. „ 1× 30 g,
3. „ 4×, zusammen 60 g.

c) Alle weiteren Angaben vgl. Tabelle Curt Helm.

Tabelle Curt Helm.

I. Periode ($^{1}/_{2}$ Milch mit Mehlsuppe).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: Fettzufuhr	Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Urinmenge	Kot: Menge trocken	Kot: Menge feucht	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Kot: Letzteres in %v. Ges.-Fett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	668	10,35	39,08	—	485	—	—	—	—	—	—	3670
2.	700	11,9	42,0	—	480	—	—	—	—	—	—	—
3.	700	14,0	42,0	—	470	—	—	—	—	—	—	— 3660
im Mittel	689,3	12,08	41,36	—	478,3	3,3606	10,0	0,4126	0,1848	44,75	96,6	— 3,3
II. Periode ($^{1}/_{2}$ Milch mit Saccharinwasser).												
1.	730	14,6	—	—	530	—	—	—	—	—	—	3660
2.	730	13,5	—	—	465	—	—	—	—	—	—	—
3.	740	11,47	—	—	495	—	—	—	—	—	—	— 3610
im Mittel	733,3	13,19	—	—	496,6	5,6846	38,3	1,1349	0,4023	35,45	91,4	— 16,6

Versuch Winkler.

a) Vorgeschichte.

Max Winkler, am 23. Juli 1905 in der Frauenklinik geboren. Mutter luetisch, seit Jahren in dermatologischer Behandlung, speziell während dieser Gravidität mehrere Hg-Kuren. Am 5. August werden Mutter und Kind in dem städtischen Kinderhort aufgenommen (Körpergewicht 3100 g). Zunächst ausschließlich Brust bis 4. September (Körpergewicht 3420 g). Dann Entlassung der Mutter. Kind auf einmal abgestillt auf Milch mit Haferschleim und Nährzucker. Dabei starke Abnahme, dünne helle Stühle und rascher Verfall. Vom 22. Sep-

tember an ausschließlich abgespritzte Ammenmilch. Sofortige Reparation mit starker Zunahme. Schon nach 14 Tagen Allaitement mixte mit Buttermilch, von letzterer schließlich 3 Mahlzeiten. Am 14. Oktober werden die beiden letzten Brustmahlzeiten fortgelassen und durch $^1/_2$ Milch mit Haferschleim ersetzt. Dabei weiteres Gedeihen, aber starke Obstipation, weshalb eine Zeitlang Malz zugesetzt wird. Vom 17. November an die Versuchsnahrung 800 g $^1/_2$ Milch mit Mehlsuppe auf 5 Mahlzeiten. Am 20. November Beginn des Versuches. Alter 4 Monate. Gute Farben, nicht schlechter Ernährungszustand. Agil. Leidlicher Turgor und Tonus. Reine Haut. Nie etwas von Lues.

b) Kotbildung.

Periode I (Milch—Mehl).

1. Tag 3 ×, im ganzen 20 g (feucht),
2. „ 1 ×, „ „ 30 g „
3. „ 1 ×, „ „ 30 g „

Durchgängig graugelb, alkalisch, geformt, ziemlich hart, stinkend. Mikroskopisch keine Fetttröpfchen. Nach Jacobson färben sich blaßrote Schollen.

Periode II (Milch—Wasser).

1. Tag 1 × 30 g (feucht),
2. „ kein Stuhl,
3. „ 2 ×, im ganzen 35 g (feucht).

Kotabgrenzung (Tierkohle) gegen Periode I haarscharf. Stuhlbeschaffenheit wie in Peride I, nur etwas mehr ins Graue gehender Farbenton und noch härtere Konsistenz.

Mit der ersten Mahlzeit der Periode III wieder $^3/_4$ g Tierkohle.

Periode III (Milchzucker).

Wiederum scharfe Abgrenzung.

Am 1. Tage 1 × 20 g (feucht),
„ 2. „ 2 ×, zus. 20 g „
„ 3. „ 3 ×, „ 50 g „

Der Kot wird in dieser Periode rein goldgelb, verliert den grauen Ton und erhält breiige Konsistenz, bleibt aber noch wurstförmig. Die Reaktion wird schwach sauer. Im mikro-

skopischen Präparate spärliche Fetttröpfchen, die sich nach Jacobson intensiv rot färben.

Periode IV (Sesamöl).

Derselben geht eine Zwischenperiode (29. November bis 7. Dezember) voran, in der erst wieder Milch und Mehl, alsdann mit Ölzusatz gegeben wird. Dabei wird der Stuhl erst wieder härter, grauer und alkalisch, um zu Beginn der Periode V fast ganz dem der Periode III zu gleichen, nur ist er während der ganzen Periode IV stets etwas fester als der letztere.

Feuchte Kotmenge	1. Tag	3 ×,	zusammen	40 g,
	2. „	3 ×,	„	50 g,
	3. „	2 ×,	„	30 g,
	4. „	3 ×,	„	50 g.

Periode V (Malz).

Typischer, gelbbrauner, geformter Malzstuhl, der allmählich breiiger und formlos wird, um nach Schluß des Versuches bei Weglassung des Malzzusatzes wieder geformt zu werden, so daß die Abgrenzung gegen den nachfolgenden graugelben Milch-Mehl-Stuhl wiederum tadellos gelingt.

Feuchte Kotmenge	1. Tag	2 ×,	zusammen	45 g,
	2. „	2 ×,	„	70 g,
	3. „	3 ×,	„	60 g.

c) Alle weiteren Angaben vgl. Tabelle Max Winkler

Versuch Kramarczyk.

a) Vorgeschichte.

Alfred Kramarczyk wurde im Alter von ca. 10 Tagen mit einem Körpergewicht von 2430 g in den städtischen Kinderhort eingeliefert. Bei Brusternährung, vorübergehend mit Zufütterung einer Mahlzeit $^1/_3$ Milch mit Haferschleim, eine Zeitlang geringe Zunahme, dann wieder Rückgang, so daß im Alter von $2^1/_4$ Monaten (Körpergew. 2230 g) zum Allaitement mixte mit Buttermilch übergegangen wurde, worauf alsbaldiger Anstieg der Körpergewichtskurve und entsprechende Besserung des mittlerweile stark herabgekommenen Kindes. Im Verlaufe der nächsten Wochen wird nun die Brust ganz weggelassen und

Tabelle Max Winkler. I. Periode (1/2 Milch mit Mehlsuppe).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: Fettzufuhr	Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Urinmenge	Kot: Menge trocken	Kot: Menge feucht	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	775	12,01	46,20	—	465							3650
2.	700	11,9	42,00	—	420							
3.	700	14,0	42,00	—	450							3610
im Mittel	725	12,64	43,5	—	445	4,7813	20	0,8116	0,4661	57,0	93,6	—13,3

II. Periode (1/2 Milch mit Saccharinwasser).

Versuchstag	Menge	Fettzufuhr	Mehl	Zucker	Urinmenge	trocken	feucht	Gesamtfett	Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	730	14,6	—	—	530							3610
2.	740	13,69	—	—	530							
3.	745	11,55	—	—	585							3410
im Mittel	738,3	13,28	—	—	548,3	4,8844	22	0,5004	0,2382	47,6	96,2	—66,6

III. Periode (1/2 Milch mit Milchzuckerlösung).

Versuchstag	Menge	Fettzufuhr	Mehl	Milchzucker	Urinmenge	trocken	feucht	Gesamtfett	Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	760	12,31	—	45,6	510							3410
2.	730	11,82	—	43,8	460							
3.	745	12,06	—	44,7	490							3550
im Mittel	745	12,06	—	44,3	486,6	4,5359	30	0,6162	0,1570	25,5	94,9	+46,6

IV. Periode (1/2 Milch mit Mehl und Sesamöl).

Versuchstag	Menge	Fettzufuhr: davon Milchfett	Fettzufuhr: davon Öl	Mehl	Zucker	Urinmenge	trocken	feucht	Gesamtfett	Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	841,1	14,52	10,1	49,8	—	510							3480
2.	832,4	13,53	12,4	49,2	—	460							
3.	847,8	14,11	17,8	49,8	—	440							
4.	856,6	15,12	16,6	50,4	—	540							3610
im Mittel	844,5	14,32	14,22	49,8	—	487,5	6,0612	34	1,5250	0,0945	6,2	94,7	+32,5

V. Periode (1/2 Milch mit Mehl und Malz).

Versuchstag	Menge	Fettzufuhr	Mehl	Malzsuppenextrakt	Urinmenge	trocken	feucht	Gesamtfett	Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	860	15,05	51,6	68,80	400							3610
2.	820	14,35	49,2	65,60	410							
3.	850	14,02	51,0	68,00	470							3780
im Mittel	843,3	14,47	50,6	67,46	426,6	7,2954	58	1,7180	0,0860	5,0	88,1	+56,6

allmählich zur Ernährung mit 2 Mahlzeiten Buttermilch, 3 Mahlzeiten $^1/_2$ Milch mit Schleim übergegangen (1. Juli 3 Monate alt, Körpergew. 2490 g).

Bald darauf folgte wegen der Entleerung von grauen Seifenstühlen ein Malzzusatz, und bei dieser Ernährung trat ein in jeder Beziehung zufriedenstellendes klinisches Verhalten des Kindes ein. Am 4. Oktober (Alter $6^1/_2$ Monate, Körpergew. 3560 g) Übergang zu $^1/_2$ Milch mit Mehl und Malz, zunächst 5×140 g, vom 12. Okt. an 5×150 g und vom 15. Nov. an 5×160 g. Vom 17. Nov. an die Versuchsnahrung 5×160 g $^1/_2$ Milch mit Mehl (ohne Malz).

Alter bei Beginn des Versuches 8 Monate, Körpergewicht 3820 g. Für sein Alter kleines, agiles Kind mit gutem Tonus, mäßigem Turgor. Sitzt noch nicht. Reine Haut.

b) Kotbildung.

Periode I (Milch — Mehl).

1. Tag kein Stuhl,
2. „ „ „
3. „ 4mal „ zusammen 70 g (feucht),

davon die erste Entleerung zu Beginn des 3. Versuchstages, die letzte erst mehr als 24 Stunden nach Schluß der Versuchsperiode, abgewartet bis zum Erscheinen der Abgrenzung ($^3/_4$ g Tierkohle mit der ersten Mahlzeit der Periode II verabreicht). Kotbeschaffenheit durchgängig geformt hart, graugelb, alkalisch, stinkend, mikroskopisch keine Tröpfchen. Nach Jakobson nur blaßrote Schollen.

Periode II (Milch — Wasser). Gut gelungene Abgrenzung.

1. Tag kein Stuhl,
2. „ 2mal „ zusammen 20 g (feucht),
3. „ „ „ „ 20 g „

Stuhlbeschaffenheit wie in Periode I, nur noch grauer und härter. Mit der ersten Mahlzeit der Periode III wird wieder $^3/_4$ g Tierkohle gegeben (also 3tägige Kotsäule).

Periode III (Milchzucker). Die Abgrenzung wieder scharf. Der Kot wird weicher, verliert den grauen Ton, wird ausgesprochen goldgelb, schwach sauer. Mikroskopisch Fetttröpfchen, nach Jakobson dunkelrot färbbar.

Tabelle Alfred Kramarczyk. I. Periode ($^1/_2$ Milch mit Mehlsuppe).

Versuchstag	Nahrung: Menge	Nahrung: Fettzufuhr	davon Öl	Kohlenhydratzufuhr: Mehl	Kohlenhydratzufuhr: Zucker	Urinmenge	Kot: Menge trocken	Kot: Menge feucht	Kot: Gesamtfett	Kot: Seifenfett	Letzteres in % vom Gesamtfett	% Fettresorpt.	Körpergewicht
1.	855	13,25		51,3	—	455							3820
2.	820	13,94		49,2	—	370							
3.	800	16,00		48,0	—	440							3780
im Mittel	825	14,39		49,5	—	421,6	3,8779	17,5	0,479	0,2238	46,7	96,7	—13,3
II. Periode ($^1/_2$ Milch mit Saccharinwasser).													
1.	820	16,4		—	—	465							3780
2.	840	15,54		—	—	455							
3.	880	13,64		—	—	525							3700
im Mittel	846,6	15,19		—	—	481,6	3,9606	13,3	0,4222	0,1774	42,1	97,2	—26,6
III. Periode ($^1/_2$ Milch mit Milchzuckerlösung).													
					Milchzucker								
1.	870	14,09		—	52,2	500							3700
2.	850	13,77		—	51,0	470							
3.	825	13,36		—	49,5	355							3780
im Mittel	848,3	13,74		—	50,9	441,6	5,225	16,6	0,6817	0,0938	13,8	95,0	+26,6
IV. Periode ($^1/_2$ Milch mit Mehl und Sesamöl).													
		davon Milchfett	davon Öl										
1.	881,2	15,22	11,2	52,2		510							3650
2.	863,8	14,02	13,8	51,0		490							
3.	893,9	14,96	13,9	52,8		460							
4.	874,0	15,48	14,0	51,6		500							3710
im Mittel	878,2	14,92	13,2	51,9	—	490	5,4612	27,0	1,0431	0,1037	7,9	96,3	+15
V. Periode ($^1/_2$ Milch mit Mehl und Malz).													
					Malzsuppenextrakt								
1.	910	15,93		54,6	72,8	380							3710
2.	890	15,56		53,4	71,2	420							
3.	860	14,19		51,6	68,8	450							3930
im Mittel	886,6	15,23		53,2	70,93	416,6	7,8232	40,6	0,9404	0,0559	5,9	93,8	+73,3

In der nun folgenden 8tägigen Zwischenperiode (Milch — Mehl) wird der Stuhl zunächst wieder wie in Periode I und sodann auf Ölzusatz wieder fast gleich dem Stuhle der Periode III. Am 7. Dez. beginnt

Periode IV (Öl), in der der Stuhl durchweg diese Beschaffenheit behält:

1. Tag 1 × 20 g (feucht),
2. „ 1 × 40 g „
3. „ 1 × 40 g „
4. „ 1 × 35 g „

Periode V (Malz). Typischer hellbrauner Malzstuhl, schön abgegrenzt, erst noch wurstförmig, dann mehr breiig. Nach Schluß des Versuches wird Malz wieder weggelassen, so daß die Kotpassage wieder retardiert wird und die letzten Teile der Malzkotsäule wieder wurstförmig werden und sich scharf von dem nachfolgenden graugelben Milch-Mehl-Stuhl abgrenzen, Die feuchten Kotmengen betragen:

1. Tag 1 × 40 g,
2. „ 3 × zusammen 30 g,
3. „ 1 × „ 50 g,

c) Alle weiteren Angaben vgl. Tabelle Alfred Kramarczyk.

Der Besprechung der Versuchsergebnisse seien noch folgende, die angewendete Methodik betreffende Angaben vorausgeschickt.

Die Fettbestimmung in der Nahrung erfolgte nach Gerber oder (bei kohlenhydratreichen Gemischen) durch Ätherextraktion im Soxhletapparat. Die Bestimmung des Gesamtfetts im Trockenkot war bei den Versuchen Otto und Martha Scholz sowie Jockisch die übliche Ätherextraktion; bei den weiteren Versuchen wurde dann die Alkohol-Chloroformextraktion nach Rosenfeld angewendet. Ferner wurde aus besonderer Kotportion der Äther- bzw. Chloroformextrakt für sich gewonnen, alsdann erst der Rückstand mit salzsaurem Alkohol gespalten und die Fettsäuren der sog. unlöslichen Seifen extrahiert, die Extrakte in wasserfreiem Äther aufgenommen und bei 50° getrocknet. Jeder der auf diese Weise resultierenden drei Werte wurde durch 3 bis 5 Kontrollbestimmungen gesichert. Hierbei darf nicht außer acht gelassen werden, daß die in den Tabellen kurz als

„Seifenfett" aufgeführte Zahl weder das Gewicht aller an Seifen gebundenen Fettsäuren angibt, da ja ein Teil der Alkaliseifen auch ohne Spaltung mit salzsaurem Alkohol extrahiert wird, noch auch wiederum nur die Fettsäuren der Erdseifen, da die Alkaliseifen jedesfalls vor der Spaltung nicht quantitativ entfernt werden. Unser „Seifenfett" ist daher nur eine konventionelle Zahl, die sich aus den Fettsäuren der Erdseifen und eines gewissen Anteils der Alkaliseifen zusammensetzt, die indessen bei gleichmäßiger Handhabung der Methodik als Vergleichswert und zu einstweiliger Orientierung sehr wohl brauchbar erscheint. Es sei noch hinzugefügt, daß in einigen Kontrollbestimmungen nach Rosenfeld etwas mehr Gesamtfett erhalten wurde, als mittels der Ätherextraktion, daß aber der Anteil des Seifenfetts am Gesamtfett bei beiden Verfahren nicht wesentlich differierte.

Besprechung der Versuche.

A. Fettresorption.

Obgleich es sich um Kinder handelt, von denen kein einziges die Bezeichnung gesund verdient, vielmehr durchweg um mehr oder weniger zurückgebliebene Kinder, teilweise solche mit schweren Ernährungsstörungen, so ist doch im allgemeinen die Fettresorption eine sehr günstige. Ich habe die Resorptionszahlen mit den sonst aus der Literatur bekannten a. a. O.[1]) in einer Übersichtstabelle vereinigt und aus derselben den Schluß ziehen zu müssen geglaubt, daß stärkere Fettverluste durch den Darm höchstwahrscheinlich nur dort zustande kommen, wo die Fettspaltung daniederliegt, also in erster Reihe bei akuten Ernährungsstörungen mit vermehrter Peristaltik und bei fieberhaften Krankheitszuständen. Von diesen Momenten spielt in den vorliegenden Versuchen nur das erstere eine Rolle, und zwar in der II. Periode des Versuches Curt Helm, in der ein akuter Durchfall auftrat; ich zögere nicht, die hier beobachtete Verminderung der Fettresorption von 96,6 auf 91,4% mit dieser Störung in Zusammenhang zu bringen.

Im Übrigen waren sämtliche Versuchskinder frei von irgendwelchen akuten oder subakuten Krankheitserscheinungen; die schweren chronischen Störungen, wie bei Otto Scholz und

[1]) Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 3, 1909.

Kramarczyk, erwiesen sich dagegen für die Fettresorption als belanglos. Besonders sei hier noch auf das Verhalten des Kindes Jockisch hingewiesen, das als ziemlich frischer Rekonvaleszent nach schwerer akuter Störung 95 % Fett resorbierte, und zwar 93 % sogar zu einer Zeit, wo es nach der Beschaffenheit seines Stuhles das Bild sog. Fettdiarrhöe darbot. Man erkennt aus den Zahlen für die Fetteinfuhr und -ausfuhr ohne weiteres, daß das klinische Verhalten des Stuhles lediglich durch eine größere absolute Kotfettausscheidung bei erhöhter Fetteinfuhr zustande kommt, keinesfalls aber als Anzeichen verschlechterter Resorption gelten darf.

Was den Einfluß der beigegebenen andern Nahrungsstoffe auf die Fettresorption betrifft, so ist nach dieser Richtung in den Versuchen nichts sicheres zutage getreten.

Die Bedeutung der Stuhlbildung als solcher ist an den hier folgenden Tabellen I und II zu prüfen:

Tabelle I.

A		Fettzufuhr	Fett-ausscheidung	Davon unlösl. Seifen	Resorpt. %
Otto Scholz .	I	15,3	0,8416	49,8	94,5
„ „ .	II	15,3	1,0878	53,1	90,8
Martha Scholz	I	12,7	0,9200	43,5	92,4
Kramarczyk .	I	14,4	0,4790	46,7	96,7
„ .	II	15,2	0,4222	42,1	97,2
Winkler . . .	I	12,6	0,8116	57,0	93,6
„ . . .	II	13,3	0,5004	47,6	96,2
Helm	I	12,1	0,4026	44,7	96,6
		im Mittel	0,6831	48,0	94,5
B					
Kramarczyk .	III	13,7	0,6817	13,8	95,0
„ .	V	15,2	0,9407	5,9	93,8
Winkler . . .	III	12,1	0,6162	25,5	94,9
„ . . .	V	14,5	1,7180	5,0	88,1
Kramarczyk .	IV	28,1	1,0431	7,9	96,3
Winkler . . .	IV	28,5	1,5250	6,2	94,7
Jokisch . . .	I	20,6	0,9756	35,9	95,3
„ . . .	II	19,7	0,9149	28,7	95,3
„ . . .	III	24,6	1,7067	35,6	93,1
		im Mittel	1,1246	18,3	93,8

Tabelle II.

A Kramarczyk	Fett-zufuhr	Fett-aus-scheidung	Unlösl. Seifen	Kotfett %	Resorpt. %
I Mehl	14,39	0,4790	46,7	12,3	96,7
II Wasser . . .	15,19	0,4222	42,1	10,7	97,2
III Milchzucker .	13,74	0,6817	13,8	13,0	95,0
IV Öl	28,12	1,0431	7,9	19,1	96,3
V Malz	15,23	0,9404	5,9	12,0	93,8
B Winkler					
I Mehl	12,64	0,8116	57,0	16,9	93,6
II Wasser . . .	13,28	0,5004	47,6	10,3	96,2
III Milchzucker .	12,06	0,6162	25,5	13,6	94,9
IV Öl	28,54	1,5250	6,2	25,2	94,7
V Malz	14,47	1,7180	5,0	23,5	88,1

In der Tabelle I sind im oberen Teile 8 Versuchsperioden aufgeführt, in denen durchweg charakteristischer graugelber bis grauweißer, stinkender alkalischer, geformter oder harter Stuhl zur Beobachtung kam. Im unteren Teile handelt es sich um 9 Versuchsperioden mit mehr oder minder breiigem, saurem, gallig gefärbtem, sozusagen normalem Stuhl (also bei Brust, Milchzucker, Fettanreicherung, Malzzusatz). In der Tabelle II zeigt jeder der beiden darin aufgeführten Versuche von Periode I bis V die vollkommene allmähliche Umwandlung des anfänglichen Seifenstuhls in die entgegengesetzte Stuhlbeschaffenheit.

Aus beiden Tabellen geht nun mit aller Deutlichkeit hervor, daß extrem hohe wie extrem geringe Ausscheidung von Seifen im Stuhl mit der Frage der Fettresorption als solcher nichts zu tun haben.

B. Die Seifenausscheidung.

An den Prozentzahlen des ausgeschiedenen Seifenfetts ist bemerkenswert, daß sie auf das genaueste mit den klinischen Merkmalen der Faeces harmonieren und daß die diätetischen Maßnahmen, deren Wirkung auf die Seifenverteilung hier untersucht wurde, diese Prozentzahlen durchgehends in dem Sinne beeinflußten bzw. unbeeinflußt ließen, wie wir dies auf Grund der klinischen Beobachtung erwarten durften.

So sehen wir, daß Mehl und Rohrzucker in allen Versuchen sich, wie auch sonst im allgemeinen, ohne besonderen Einfluß

auf die Beschaffenheit der Faeces zeigte und dementsprechend auch das Prozentverhältnis: Seifenfett : Gesamtfett unberührt ließ. Es zeigten sich hier nur geringe und bei den einzelnen Versuchskindern in verschiedener Richtung liegende Ausschläge, die im Bereiche der Versuchsfehler und der natürlichen Schwankungen liegen dürften. Dagegen hatten Milchzucker und Malzextrakt bei der angewendeten Versuchsanordnung die bekannte energische Wirkung im Sinne der Beseitigung des Seifenstuhles und führten denn auch zur prompten Verminderung der Seifenprozentzahl. Das gleiche gilt von der Fettanreicherung der Nahrung durch zugelegtes Sesamöl in den Versuchen Winkler und Kramarczyk. Auch der Brustmilchstuhl in den Versuchen Jockisch zeichnete sich entsprechend seiner klinischen Beschaffenheit durch einen niedrigen Gehalt an Seifenfett aus. Was den Einfluß der zugelegten Mahlzeit Buttermilch betrifft, die man für den vorliegenden Zweck in Anbetracht des indifferenten Verhaltens der zugemischten kleinen Mehl- und Rohrzuckermenge im wesentlichen als eine Caseinzulage bezeichnen kann, so hat dieselbe innerhalb der relativ kurzen Versuchsdauer die vom Krankenbette her als gesetzmäßig bekannte Wirkung im Sinne des Zustandekommens von Seifenstuhl noch nicht hervorgebracht. Demgemäß ist auch hier die Erhöhung der Seifenprozentzahl noch nicht zu konstatieren. Die geringe Verminderung derselben dürfte auch hier in zufälligen Schwankungen ihren Grund haben; von einem derartigen Werte können wir naturgemäß keine absolute Konstanz erwarten, werden dafür aber auch nur solche Ausschläge verwerten, die, wie die bei Milchzucker, Öl und Malz erzielten, über jeden Zweifel erhaben sind.

Über die Frage der Wirkung des Caseins auf die Seifenausscheidung verweise ich im übrigen auf meine Ausführungen in der mehrfach zitierten Arbeit.

In derselben sind auch die Ursachen des Zustandekommens der vermehrten Seifenbildung, ihre Abhängigkeit von den Fäulnisvorgängen im Darm und von allen diese begünstigenden Momenten bereits eingehend erörtert und auch der einzigen, diesen Gegenstand behandelnden Arbeit von Hecht[1]) gedacht worden.

[1]) Über die Bedeutung der Seifenstühle im Säuglingsalter. Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 19.

C. Kalkstoffwechsel.

Auch die Frage der Rückwirkung der Seifenstuhlbildung auf den Stoffwechsel der alkalischen Erden habe ich an jener Stelle bereits behandelt. In den Versuchen Kramarczyk und Winkler wurde in den Perioden I (Mehl), IV (Öl) und V (Malz) auch der Kalkstoffwechsel bestimmt.

Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle:

Versuch Winkler.[1])

	CaO in g pro die in: Nahrung	Urin	Kot	Kalkbilanz	Seifenprozent
Periode I (Mehl)	0,6523	0,0245	0,5965	+ 0,0313	57,0
Periode IV (Öl)	0,7162	0,0311	0,4306	+ 0,2545	6,2
Periode V (Malz)	0,7104	0,0198	0,3700	+ 0,3206	5,0
Versuch Kramarczyk.					
Periode I (Mehl)	0,7426	0,0118	0,5081	+ 0,2227	46,7
Periode IV (Öl)	0,7406	0,0179	0,5533	+ 0,1694	7,9
Periode V (Malz)	0,7536	0,0115	0,5376	+ 0,2046	5,9

Die beiden Versuchskinder zeigen demnach, was die Beziehungen zwischen Kalkbilanz und Seifenprozent betrifft, ein ganz verschiedenes Verhalten.

Bei Winkler bessert sich die erstere, wenn der Seifenstuhl zum Verschwinden gebracht ist. Bei Kramarczyk ist sie von vornherein auf guter Höhe und bleibt auf derselben, wird nicht besser auch nach Eintreten der normalen Stuhlbeschaffenheit.

Man gewinnt danach den Eindruck, als ob nur im ersteren der beiden Fälle die abnorme Seifenbildung zu einer Beeinträchtigung der Kalkbilanz geführt hatte.

Nach den Untersuchungen von Birk[2]) mag dieses verschiedene Verhalten der beiden Kinder darin seinen Grund haben, daß bei Winkler später eine erhebliche Rachitis zutage trat, die sich vermutlich um jene Zeit bereits vorbereitet haben dürfte. Kramarczyk zeigte dagegen nur geringe rachitische Veränderungen.

Auch Birk konnte wohl bei zwei Rachitikern durch Beeinflussung des Seifenstuhls vermittels Phosphorlebertrans die

[1]) a. a. O. (Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 3) tragen die Versuche Winkler und Kramarczyk die Bezeichnung Fall B und Fall A.

[2]) Monatsschr. f. Kinderheilk. 7, Nr. 8.

Kalkbilanz bessern, bei zwei gesunden Säuglingen gelang ihm dies dagegen nicht.

Im übrigen läßt sich wohl behaupten, daß da, wo eine solche Beeinflussung überhaupt gelingt, sie nicht nur durch Lebertran oder durch Öl herbeigeführt werden dürfte, sondern überhaupt durch alle jene Momente, die die Anomalie des Seifenstuhls zu beseitigen vermögen, wie z. B. im Versuch Winkler der Malzzusatz.

Da wo die Kalkbilanz trotz veränderter Stuhlbeschaffenheit gleich bleibt, wo also im Kot stets etwa die gleichen Kalkmengen erscheinen, müssen wir dagegen eine Umlagerung eines Teils des Kalks annehmen. Wie diese stattfindet, d. h. was für Säuren anstatt der Fettsäuren die Bindung des Kalks unter solchen Umständen übernehmen, ist bisher noch nicht Gegenstand der Untersuchung gewesen.

Elektrische Überführung von Fermenten.

Von

Victor Henri.

(Aus dem physiologischen Laboratorium in der Sorbonne, Paris.)

(Eingegangen am 15. Februar 1909.)

In dem letzten Heft dieser Zeitschrift hat L. Michaelis eine Arbeit über die elektrische Überführung des Invertins veröffentlicht.

Ich möchte hier hervorheben, daß ich vor zwei Jahren mit mehreren Mitarbeitern im hiesigen Laboratorium die elektrische Überführung der Toxine und Fermente untersucht habe.

Mit Frl. P. Cernovodeanu habe ich einen Apparat beschrieben, der bequem zu diesen Versuchen anzuwenden ist.[1]) Es ist dies ein U-Rohr mit zwei Hähnen, fast identisch dem Apparat, den Michaelis in seiner Arbeit beschreibt. Wir haben dabei bewiesen, daß das Tetanus-Toxin im elektrischen Felde gegen die Anode wandert.

Mit den Herren Bierry und Schaeffer habe ich die Überführung einer ganzen Reihe von Fermenten untersucht, und zwar haben wir folgende genommen: Amylase des pankreatischen Saftes eines Hundes, Amylase aus Malz, Amylase aus dem Magensaft des Helix pomatia, Amylase aus Taka, Invertin aus Hefe, Invertin von Helix pomatia, Emulsin aus Mandeln, Emulsin von Helix pomatia, Lactase von Helix pomatia, Lab (von Hansen) und Katalase aus Leber.

In allen unseren Versuchen haben wir die Fermentlösungen zuerst während mehrerer Tage in Kollodiumsäcken dialysiert,

---

[1]) Mlle P. Cernovodeanu et Victor Henri, Etude des propriétés colloïdales de la toxine tétanique. Soc. de Biol., 20. Avril 1907, 669—671.

so daß die Überführung an Lösungen vorgenommen wurde, deren spezifische Leitfähigkeit nie größer als $12 \cdot 10^{-6}$ war. Dabei haben wir nach einer großen Anzahl von Versuchen regelmäßig gefunden, daß nur eins von den untersuchten Fermenten zur Kathode wanderte, es ist die Amylase aus dem Pankreassaft des Hundes; alle übrigen Fermente wurden zur Anode überführt. Es stehen also die Resultate von Michaelis vollständig mit unserem Befunde über Invertin im Einklange.[1])

Was nun die Methode der elektrischen Überführung von Michaelis betrifft, so glaube ich, daß sie in gewissen Fällen, z. B. bei Toxinen nicht anwendbar ist; ich glaube, daß es nicht möglich ist, wirklich sichere und eindeutige Resultate zu erhalten, wenn man die Lösungen nicht gründlich dialysiert, und damit man den Grad der Dialyse definieren könne, muß man immer die elektrische Leitfähigkeit der Lösungen und des Wassers angeben.

Bei der elektrischen Überführung organischer Flüssigkeiten soll die Stromstärke höchstens 0,0001 Ampère, bei einem Potentialabfalle von 5 Volt pro Zentimeter, sein. Wenn die Lösungen nicht dialysiert sind, kann man die Bildung von Säure und Alkalien nicht vermeiden, auch wenn man über die Lösung destilliertes Wasser schichtet und die Elektroden in dieses eintaucht; denn es entstehen beim Stromdurchgange Säure und Alkali an den Grenzflächen zwischen Wasser und der untersuchten Lösung. Die Benutzung unpolarisierbarer Elektroden, wie es Michaelis anwendet, kann diese Bildung nicht vermeiden.

Ein weiterer Nachteil des Apparates von Michaelis ist, daß die Öffnungen in den Hähnen viel enger als die des U-Rohres selbst sind; dieser Umstand macht die Bestimmung des Potentialabfalles im Apparate recht schwierig.

---

[1]) Bierry, V. Henri et Schaeffer, Etude du transport électrique des ferments solubles. Soc. de Biol. 27. Juil. 1907, 226.

Erwiderung auf die vorangehende Notiz von V. Henri.

Von

L. Michaelis.

(Eingegangen am 26. Februar 1909.)

Der Unterschied in der Fragestellung von Henri mit seinen Mitarbeitern und mir ist folgender. Henri stellt sich die Aufgabe, die Ladung der Fermente (Toxine usw.) in ihrer möglichst reinen und neutralen wässerigen Lösung festzustellen. Ich wurde von der Absicht geleitet, diese Ladung unter verschiedenen Bedingungen, bei wechselndem Elektrolytgehalt und vor allem bei wechselnder Reaktion des Mediums kennen zu lernen, um aus der Möglichkeit der Umladung Schlüsse zu ziehen. Beim Invertin, von dem ich zeigen konnte, daß es unter allen Umständen anodisch wandert, ist daher die Rücksichtnahme auf die begleitenden Elektrolyte nicht notwendig. Meine inzwischen abgeschlossene Versuchsreihe mit Trypsin (s. S. 486) zeigt, daß ich bei der Untersuchung amphoterer Substanzen den Elektrolytgehalt und die bei ungleichartiger Zusammensetzung der drei Abschnitte des U-Rohres eintretende Änderung der Reaktion wohl berücksichtigte und von dialysierten Fermentlösungen ausging. Infolge seines Bestrebens, immer in möglichst elektrolytfreien Lösungen zu arbeiten, ist Henri auf die Wirkung der äußeren Bedingungen auf den Sinn der Ladung nicht eingegangen, während für mich gerade diese Fragestellung an Interesse überwog.

Der Mangel des von mir benutzten Apparates, daß er infolge der Verengung des Querschnittes von 10 mm auf ca. 4 mm in den Glashähnen nicht gestattet, den Potentialabfall von Punkt zu Punkt genau anzugeben, fällt für diese qualitativen Versuche nicht störend ins Gewicht. So zeigt es sich, daß ich die Bearbeitung der Frage in etwas anderem Sinne unternahm als Henri, dessen Mitteilung über diesen Gegenstand mir zu meinem Bedauern entgangen war.

Der Eiweißstoffwechsel bei Kohlenoxydvergiftung.

Von

Charles G. L. Wolf und Emil Österberg.

(Department of Chemistry Cornell University, Medical College, New York, City.)

(Eingegangen am 5. Februar 1909.)

Obgleich die Kohlenoxydvergiftungen vielfach Gegenstand wichtiger Untersuchungen gewesen sind, so z. B. über die Wirkung des Sauerstoffmangels auf die Blutgase, über das Auftreten von Zucker im Harn und über die Ausscheidung einer den Kohlenhydraten nahestehenden Substanz, nämlich der Milchsäure, so hat man doch in den letzten Jahren der Zusammensetzung des Harns bezüglich seiner stickstoff- und schwefelhaltigen Bestandteile wenig Aufmerksamkeit zugewandt.

In den siebziger Jahren wurde die Frage nach der Wirkung des Kohlenoxyds auf die Stickstoffausscheidung experimentell von Fraenkel[1]) und von Eichhorst[2]) in Angriff genommen.

Der erstgenannte Forscher glaubte, daß eine sehr deutliche Steigerung in der Stickstoffausscheidung durch die Kohlenoxydvergiftung stattfinde, welche Eichhorst der darauffolgenden Diurese zuschrieb. Jeanneret teilt in einer Dissertation ebenfalls Ergebnisse einer Untersuchung über Kohlenoxydvergiftung mit, und es sei bemerkt, daß seine Resultate ausführlich in v. Noordens Handbuch wiedergegeben und als die vollständigsten bezeichnet werden. Einige Jahre später unternahmen Paton und Eason[3]) eine Prüfung der Beziehungen von Harnstoffstickstoff und Ammoniakstickstoff zum Gesamt-

---

[1]) Fraenkel, Virchows Archiv 67, 273, 1876; 71, 117, 1877.

[2]) Eichhorst, Virchows Archiv 70, 56, 1877.

[3]) Paton und Eason, Journ. of Physiol. 26, 366, 1901.

stickstoff und gelangten zu dem Schlusse, daß unter dem Einflusse des Kohlenoxyds der als Harnstoff ausgeschiedene Teil des Gesamtstickstoffes abnehme.

Gleichzeitig konnte man bei einer Prüfung der Ergebnisse dieser Forscher sehen, daß sich unter der Wirkung des Kohlenoxyds die Menge des als Ammoniak ausgeschiedenen Stickstoffs vergrößert und sich die Quantität des als neutraler Schwefel ausgeschiedenen Schwefels vermindert.

Angesichts der Tatsache, daß Miclhsäure sehr häufig im Harn bei Kohlenoxydvergiftung gefunden ist, könnte man leicht annehmen, daß der Ammoniakkoeffizient vergrößert sei, doch Münzer und Palma[1]) berichten von einem Fall, in dem dies nicht zutraf.

Hinsichtlich der Schwefelverteilung ist gleichfalls nur wenig Sicheres bekannt. Loewis Angabe, daß die Gesamtschwefelbestimmungen nicht brauchbar sind, ist nicht ganz korrekt, denn Paton und Eason führten sie aus. Allerdings sind diese Angaben durchaus nicht hinreichend, um die Frage nach dem Einfluß des Kohlenoxyds auf die Schwefelverteilung zu entscheiden.

Im Verlaufe einer Reihe von Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel, mit welchem sich einer von uns beschäftigt hat, haben Loewy[2]) und ich die Ergebnisse der Vergiftung mit Blausäure mitgeteilt. Selbst bei tödlichen Dosen des Giftes wurde erwiesen, daß die Ausscheidung des Stickstoffes mit Ausnahme der von Kratinin und Kreatin ziemlich unverändert war. Andererseits war die Schwefelausscheidung bedeutend gestört, ganz unverhältnismäßig im Vergleich zu der des Stickstoffs.

Es lag in unserer Absicht, diese Untersuchung mit einer Arbeit über den Stoffwechsel des Hundes bei sehr niedrigem Luftdruck zu vervollständigen. Gewisse experimentelle Schwierigkeiten im Verlaufe dieser Untersuchung waren uns an einem erfolgreichen Abschluß hinderlich, und deshalb nahmen wir einen anderen Versuch mit Sauerstoffmangel auf, nämlich die Kohlenoxydvergiftung.

---

[1]) Münzer und Palma, Zeitschr. f. Heilk. 15, 185, 1896.
[2]) Loewy und Wolf, diese Zeitschr. 8, 132, 1908.

Saiki und Wakayama[1]) haben nachgewiesen, daß der Sauerstoffgehalt des Blutes von 20 Volumenprozent auf 6 und sogar auf 2 Volumenprozent während der Vergiftung fällt. Zugleich nimmt auch der Kohlendioxydgehalt ab. Es hat den Anschein, daß dieser letztere Umstand von einem Überschuß von Säureprodukten im Blut, hauptsächlich von Fleischmilchsäure, herrührt. In jedem Fall findet eine bedeutende Störung des Gasstoffwechsels statt, und es war von großem Interesse, sich zu vergewissern, wie weit sich diese Störungen im Eiweißstoffwechsel fühlbar machten.

Experimenteller Teil.

Die zu diesem Versuch benutzten Tiere waren Hündinnen. Die Vorbereitung der Tiere und die Methoden der Analyse waren im großen und ganzen dieselben, wie sie von Österberg und Wolf[2]) und Loewy und Wolf[3]) angewandt worden sind.

Die Tiere wurden während der Vergiftung in einem mit Fenstern versehenen Verschlage, der 75 zu 37,5 zu 43,7 cm maß und daher 123,2 l enthielt, eingeschlossen. Er stand mit einem System von Aspiratoren in Verbindung, aus denen gemessene Mengen Gas entnommen werden konnten. Wenn die Tiere betäubt waren, wurden sie aus dem Verschlage genommen und in Stoffwechselkäfige gesetzt. Man bemühte sich, eine Reihe Betäubungen von wechselnder Stärke, gleich denen von Loewy und Wolf mit Blausäure, hervorzubringen. Indessen zeigten die Tiere solch einen ausgesprochenen Unterschied in ihrem Widerstande gegen das Gift, daß es uns unmöglich war, dieses Resultat zu erreichen. Die Zeit, während deren die Tiere dem Gase ausgesetzt waren, war indessen verschieden, und wir geben die Symptome, die während der Vergiftung hervorgebracht wurden, in den folgenden Protokollen ausführlich wieder, damit man daraus ersehen kann, wie weit die Betäubung getrieben wurde.

Nr. 400. Foxterrier, Hündin, seit dem 22. Aug. im Laboratorium mit Hundezwieback gefüttert. Das Experiment begann am 24. Aug. von da ab ohne Nahrung, 25. Aug. ebenfalls, 26. Aug. ebenfalls, 27. Aug.

[1]) Saiki und Wakayama, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 96, 1901.
[2]) Österberg und Wolf, diese Zeitschr. 5, 304, 1907.
[3]) Loewy und Wolf, l. c.

ebenso. 10.58 vormittags kam der Hund in den Verschlag; 11.03 Beginn der Gaszufuhr; 11.08 4,5 l Gas; 11.12 taumelte der Hund, fiel hin und wurde aus dem Verschlage in den Käfig gebracht.

28. Aug. Ohne Nahrung; 10.18 vormittags kam der Hund in den Verschlag; 10.23 4,5 l Gas; 10.27 taumelte und fiel der Hund, wurde herausgenommen und in den Käfig gebracht; 10.35 brach er.

29. Aug. Ohne Nahrung; 10.14 vormittags kam der Hund in den Verschlag; 10.18 Gaszufuhr; 10.22 4,5 l Gas; 10.27 taumelte der Hund und kam in den Käfig.

30. und 31. Aug. und 1. Sept. Ohne Nahrung.

Nr. 401. 27., 28., 29. Aug. Ohne Nahrung.

30. Aug. Hungertag; 10.38 vormittags kam der Hund in den Verschlag; 10.47 Gaszufuhr; 10.51 Unterbrechung derselben, 4,5 l; 10.38 schwach; 10.40 legt sich, atmet schwer, geringe Konvulsionen; 10.41 wurde das Tier herausgenommen und ihm Sauerstoff zugeführt; 10.55 wurde es in den Käfig gebracht.

1. Sept. Ohne Nahrung; Erbrechen 9.25 vormittags; 10.29 in den Verschlag gesetzt; 10.34 Gas eingelassen; 10.37 das Gas abgestellt, 4,5 l; 10,39 wird schwach; 10.41 legt sich, Konvulsionen; 10.43 komatös; 10.44 herausgenommen; 11.00 in den Käfig gebracht.

2., 3., 4., 5. Sept. Hungertage.

Nr. 405. 5., 6., 7. Okt. Hungertage.

8. Okt. Ohne Nahrung; 10.50 vormittags kam der Hund in den Verschlag; 10.52 wurde Gas zugelassen; 10.53 Gasstrom unterbrochen; 2000 ccm Gas; 11.08 wurde der Hund herausgenommen und in den Käfig gebracht; er war nicht angegriffen.

3.59 nachmittags kam der Hund in den Verschlag und Gas wurde zugeführt; 4.01 Gasstrom abgestellt, 2000 ccm Gas; 4.18 wurde er schwach und legte sich nieder, 2000 ccm Gas; 4.21 wurde er herausgenommen und in den Käfig gebracht.

9. Okt. Hungertag. 10.44 vormittags kam der Hund in den Verschlag; 10.46 wurde Gas zugeführt; 10.48 Gasstrom unterbrochen, 4,5 l; 10.53 legt er sich nieder und wird schwach; 10.58 bewußtlos; 11.05 Erbrechen, herausgenommen und in den Käfig gebracht; 11.15 erholte er sich wieder.

10. Okt. Ohne Nahrung; 10.20 vormittags in den Verschlag; 10.22 Gas zugeführt; 10.25 Gasstrom unterbrochen, 4,5 l; 10.28 wurde wieder Gas zugeführt; 10.31 Gas abgestellt, 4,5 l; 10.37 hört die Atmung auf, wird herausgenommen und in den Käfig gebracht. Der Hund erholte sich 10.53.

3.29 nachmittags wird der Hund in den Verschlag gebracht; 3.37 Gas zugeführt, 4,5 l; 3.40 bewußtlos, Gas abgestellt; 3.45 der Hund sieht leblos aus; 3.46 wird er herausgenommen und erhält Sauerstoff zugeführt; 4.30 komatös; 5.50 Tod.

Nr. 406. 9., 10., 11. Okt. Hungertage.

12. Okt. Ohne Futter; 9.46 vormittags der Hund in den Verschlag; 9.48 Gas zugeführt; 9.50 Gas abgestellt, 2000 ccm; 9.56 Gas zugeführt;

9.58 Gasstrom unterbrochen, 2000 ccm; 10.05 Deckel abgenommen, Tier komatös; 10.10 Deckel aufgelegt und 2000 ccm gegeben; 10.22 Deckel abgenommen; 10.25 Deckel wieder aufgelegt, 2000 ccm Gas gegeben; 10.33 komatös; 10.38 2000 ccm Gas; 11.10 Deckel ab; 11.15 2000 ccm Gas; 11.25 Deckel ab; 11.35 2000 ccm Gas; 11.42 Deckel ab; 11.50 2000 ccm Gas; 11.55 Deckel ab; 12.08 2000 ccm Gas; 12.14 Deckel ab; 12.34 2000 ccm Gas; 12.40 Deckel ab; 12.55 in den Käfig gelegt.

13. Okt. Hungertag. 9.47 vormittags in den Verschlag; 9.50 2000 ccm Gas; 9.55 2000 ccm Gas; 10.05 Koma; 10.07 Deckel ab; 10.20 2000 ccm Gas; 10.30 2000 ccm Gas; 10.34 Krämpfe; 11.00 2000 ccm Gas; 11.13 Deckel abgenommen; 11.25 2000 ccm Gas; 11.40 Deckel abgenommen; 12.10 2000 ccm Gas; 12.55 herausgenommen und in den Käfig gebracht.

14. Okt. Hungertag. 9.44 vormittags in den Verschlag gebracht; 9.45 2000 ccm Gas; 9.55 2000 ccm Gas; 10.05 komatös; 10.06 Deckel ab; 10.20 2000 ccm Gas; 10.40 Koma; Deckel ab; 11.00 2000 ccm Gas; 11.11 Koma, Deckel ab; 11.24 2000 ccm Gas; 11.45 komatös, in den Käfig gebracht.

15. Okt. Ohne Futter. 9.51 vormittags in den Verschlag gebracht; 9.55 2000 ccm Gas; 10.50 Deckel ab; 11.05 2000 ccm Gas; 12.27 Deckel ab; 12.55 2000 ccm Gas; 1.10 nachmittags Deckel ab; 1.25 4000 ccm Gas; 1.38 Deckel ab und in den Käfig gebracht.

16. Okt. Hungertag. 9.50 vormittags in den Verschlag gebracht; 9.53 4000 ccm Gas; 10.20 Deckel ab; 10.35 2000 ccm Gas; 10.54 Deckel ab; 11.08 2000 ccm Gas; 11.27 Deckel ab; 11.40 2000 ccm Gas; 11.57 in den Käfig gebracht.

17., 18., 19. Okt. Hungertage.

Wie aus den Protokollen zu ersehen ist, bestand ein großer Unterschied in der Widerstandsfähigkeit der Tiere, indem nur eins an den Folgen der Vergiftung starb. Da die Resultate der Vergiftung auf den Stoffwechsel der untersuchten Tiere nicht wesentlich voneinander abweichen, sollen die Tabellen nicht einzeln, sondern zusammen besprochen werden.

Gewichtsverlust.

Der durchschnittliche Verlust an Gewicht steht nicht im Verhältnis zur Stärke der Vergiftung, wie aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist.

Tabelle I.

Nr.	Anfangsgewicht	Endgewicht	Tage	Abnahme	Täglicher Gewichtsverlust pro kg
400	4320	3400	8	920	26
401	6520	5260	9	1260	21
405	9120	8080	5	1040	23
406	6880	5240	10	1540	22

Wie zu erwarten war, hat das kleinste Tier (Nr. 400) den verhältnismäßig größten Gewichtsverlust erlitten, und das Tier, welches an der Vergiftung starb, erfuhr den geringsten Verlust an seinem ursprünglichen Körpergewicht.

Stickstoffverlust.

Als Folge der vorhergegangenen drei Hungertage hätte man, nicht als Folge der Vergiftung, sondern wegen des Glykogenverlustes erwarten können, daß eine Steigerung in der Stickstoffausscheidung stattfinden würde. Dieses wurde bei Loewy und Wolfs Experimenten mit Blausäure deutlich wahrgenommen. Tatsächlich aber ist bei den gegenwärtigen Versuchen die Menge des ausgeschiedenen Stickstoffes nach dem Eintritt der Vergiftung dieselbe, oder in einigen Fällen geringer als die am dritten Hungertage gefundene. Ein toxischer Eiweißzerfall im angenommenen Sinne hat nicht stattgefunden, oder wenigstens keiner, der zu einer vermehrten Stickstoffausscheidung geführt hätte. Der bei der Prüfung der Tabellen gewonnene Eindruck ist, daß die Wirkung des Giftes eher dazu gedient hat, den Stickstoffwechsel auf der ursprünglichen Höhe zu erhalten, statt ihn zu erhöhen. Sogar im Fall einer Vergiftung, die zum Tode des Tieres führte, war der Gesamtstickstoff eher geringer als vergrößert. So tritt hier gerade die entgegengesetzte Wirkung wie bei der Blausäurevergiftung ein. Dort verändert sich die Gesamtstickstoffausscheidung sofort mit dem Grade der Vergiftung. Es ist bemerkenswert, daß der Stickstoffverlust pro Kilogramm und pro Tag in sehr naher Beziehung zum Gewichtsverluste steht, so daß man ziemlich sicher annehmen kann, daß während des größeren Teils des Experiments der Verlust an Gewicht entweder hauptsächlich Eiweiß betraf oder daß der Eiweißverlust Schritt hielt mit dem Verlust von Fett und Kohlenhydraten. Die folgende Tabelle wird diesen Punkt näher beleuchten.

Tabelle II. Verhältnis vom Stickstoffverlust zum Gewicht.

Nr.	Täglicher Gewichtsverlust pro kg		Stickstoffverlust : Gewichtsverlust $\times$ 100
	Gewicht	Stickstoff	
400	26	0,494	1,9
401	21	0,315	1,5
405	23	0,314	1,4
406	22	0,329	1,5

Die Stickstoffverteilung.

Amidstickstoff.

Man bemerkt keine relative Abnahme in diesem Anteil des Gesamtstickstoffes, der Ammoniak- und Harnstickstoff umfaßt, so daß irgendeine Schwächung des Oxydationsvermögens, auf die man bei Kohlenoxydvergiftung hätte schließen können, sich bei den zur Harnstoff- und Ammoniakbildung führenden Desamidierungsvorgängen nicht geltend macht.

Ammoniakstickstoff.

Der Ammoniakstickstoff ist unbedingt in einigen Fällen, die Münzer und Palma[1]) und Paton und Eason[2]) beschrieben haben, vermehrt, und dieses ist besonders der Fall beim Hund Nr. 405, bei welchem die Vergiftung am dritten Tag den Tod herbeiführte.

Daß keine beträchtliche Acidosis eintrat, wird durch die Tatsache erwiesen, daß eine absolute Ammoniakstickstoffzunahme nur in einem einzigen Falle eintrat. Der Harn der Tiere Nr. 400 und Nr. 401 wurde ferner noch auf Aceton untersucht, aber nichts gefunden. Wenn Milchsäure in dem Harn dieser Tiere vorhanden war, so war sie dort in zu geringer Menge, um die Ammoniakausscheidung über die der Kontrolltage hinaus zu vergrößern. Das Verhältnis von Ammoniak zum Gesamtstickstoff ergibt auch keine Andeutung von Acidosis.

Man findet in der Tat höhere Verhältnisse während der Periode der Vergiftung als während der vorhergehenden Zeit, aber gleich hohe Zahlen wird man für normale Tiere bei gleicher Hungerperiode beobachten, und es würde jedenfalls unsicher sein, diese Zunahme des Wertes dem Einflusse des Kohlenoxyds zuzuschreiben.

Kreatinin.

Die Kreatininausscheidung sinkt im Verlauf der Versuche, aber Untersuchungen, die wir mit normalen Tieren vorgenommen haben und über welche wir später in dieser Zeitschrift berichten werden, lassen uns glauben, daß die Abnahme in diesen Versuchen innerhalb der normalen Grenzen hungernder Tiere liegt.

---

1) Münzer und Palma, l. c.
2) Paton und Eason, l. c.

Kreatin.

Andererseits zeigt die Ausscheidung dieser Substanz unter dem Einflusse des Kohlenoxyds, soweit wir sehen, eine deutliche Abweichung von der beim normalen hungernden Tier. Während sich Spuren dieser Substanz in der Tat nach einer gewissen Hungerperiode im Harn der Tiere finden, so gehen die Mengen, die wir bei diesen Experimenten, besonders im Harn des Hundes Nr. 406 beobachtet, weit hinaus über die Daten, die wir in ähnlichen Hungerperioden sonst fanden. Die Abnahme der Kreatinausscheidung während der folgenden Periode beweist, daß die Vermehrung der Kreatinausscheidung bei der Kohlenoxydvergiftung auch nur zufällig ist.

Es ist hier nicht angebracht, die Bedeutung des Kreatins im Harne zu erörtern, aber es scheint uns von großer Wichtigkeit zu sein. Abgesehen von den Mengen, welche im Harn hungernder Menschen und Tiere gefunden werden, tritt es allem Anschein nach mit großer Unregelmäßigkeit unter pathologischen und künstlichen Bedingungen auf.

So hat einer von uns seine Anwesenheit bei Brombenzolvergiftung nachgewiesen,[1]) bei Blausäurevergiftung,[2]) bei Lungenentzündung[3]) und bei Schwangerschaftszuständen,[4]) und unveröffentlichte Resultate zeigen uns, daß es in außerordentlichen Mengen bei typhöser, experimenteller Nekrose der Leber und bei Chloralhydratvergiftung auftritt, während Howland und Richards[5]) es in beträchtlicher Quantität bei ausgedehnter Chloroformvergiftung bei Hunden gefunden haben.

Man könnte annehmen, daß dieses Vorkommen stets mit einem Verlust von Körpereiweiß verknüpft sei, aber dies trifft nicht immer zu, denn bei der Untersuchung von drei Fällen von subakuter Rachitis, die von Dr. Hermann Schwarz unter Leitung des einen von uns im hiesigen Laboratorium ausgeführt sind, wurde beobachtet, daß in allen diesen Fällen Kreatin im Harn auftrat, obgleich positiv festgestellt war, daß

---

[1]) Marriot und Wolf, diese Zeitschr. 7, 213, 1907.

[2]) Loewy und Wolf, l. c.

[3]) Lambert und Wolf, Journ. of Biolog. Chem., Juli 1907.

[4]) Ewing und Wolf, Amer. Journ. Obstetrics 55, 1, 1907.

[5]) Howland und Richards, Transactions, Pathological Society, New York City, November 1908.

die Patienten im Stickstoffgleichgewicht waren oder Stickstoff ansetzten. Die Diät war natürlich eine weder Kreatin noch Kreatinin enthaltende. Andererseits ergab ein Kontrollversuch an einem normalen Kinde mit derselben Diät das Fehlen dieses Stoffes im Harne. Es scheint daher angebracht, seinem Auftreten im Harne eine ausgesprochen pathologische Bedeutung zuzuschreiben, sobald man die durch Unterernährung oder Hunger entstandenen Mengen festgestellt hat. Es ist indessen merkwürdig, daß der eine Fall von Kohlenoxydvergiftung, der zum Tode des Tieres führte, durch das vollständige Fehlen von Kreatin im Harn charakterisiert ist. Der Grund für diese Anomalie fehlt gänzlich.

Reststickstoff.

Bei der Unveränderlichkeit des Amidstickstoffs gibt es keinen Anhaltspunkt in der Ausscheidung dieser Fraktion, weder relativ noch absolut, welcher für eine besondere Wirkung des Kohlenoxyds spricht. Beim Tiere Nr. 406 schwankt das Verhältnis in ziemlich weiten Grenzen, während bei Nr. 400 eine Abnahme vorhanden ist. Bei Nr. 401 und Nr. 405 bleibt das Verhältnis unverändert. Es scheint deshalb ziemlich unwahrscheinlich, daß Aminosäuren in irgendwie größerer Menge als im normalen Harn ausgeschieden werden.

Die Schwefelverteilung.

Gesamtschwefel.

Gemäß der allgemeinen Natur der Stickstoffausscheidung findet man, daß die Ausscheidung des Gesamtschwefels nicht mit dem Einsetzen der Vergiftung steigt, und infolgedessen ist das Verhältnis von Schwefel zu Stickstoff nicht gegen die normale Relation der Hungerharne verändert. In der Tat ist man bei Vergleichen mit den von uns schon bei normalen Tieren gefundenen Zahlen verwundert über den beträchtlichen Grad von Unveränderlichkeit im Verhältnis von Schwefel und Stickstoff, den diese Harne aufweisen.

Sulfatschwefel.

Man findet einen auffallenden Unterschied zwischen diesen Ergebnissen und denjenigen von Loewy und Wolf bei Blau-

Hund Nr. 400 Tag	Körpergewicht g	Verhalten des Tieres		Harnstoff-N	Kreatinin-N	Kreatin-N	Rest-N	Gesamt-Sulfat-S	Alkali-Sulfat-S	Ätherschwefelsäuren-S	Neutraler Schwefel	S:N	P:N
				X × 100 / Gesamt-Stickstoff				X × 100 / Gesamt-Schwefel					
I	4320	Hunger, kein Wasser .	2	82,89	2,19	0,00	10,71	75,25	67,30	7,95	24,75	7,2	8,7
II	4180	„ „ „ .	2	81,86	2,22	0,00	10,90	77,57	70,83	6,74	22,43	7,5	7,9
III	4000	„ wenig „ .	1	86,79	2,04	0,59	5,37	77,44	70,98	6,46	22,56	7,0	8,3
IV	3900	„ „ „ Verg	8	84,32	1,91	0,41	7,68	73,34	66,66	6,68	26,66	6,8	9,2
V	3780	„ kein „	8	86,52	1,72	1,32	6,76	75,00	70,80	4,20	25,00	6,4	9,1
VI	3620	„ „ „	5	88,45	1,44	1,23	5,03	76,20	71,80	4,40	23,80	7,0	8,5
VII	3500	„ 50 ccm Wasser	4	80,66	1,37	0,69	7,84	73,90	63,90	10,00	26,10	7,7	6,6
VIII	3400	„ 54 „ „	3	79,37	1,36	1,15	9,19	74,00	67,40	6,60	26,00	6,8	6,8
Hund Nr. 401 Tag													
I	6520	Hunger, kein Wasser .	1	86,04	2,26	0,38	8,11	70,95	58,10	12,85	29,05	7,3	9,3
II	6240	„ „ „ .	8	86,68	2,71	0,68	7,45	74,98	61,65	13,33	25,02	6,8	9,9
III	5980	„ 80 ccm „ .	4	82,66	2,66	1,52	8,92	79,75	66,66	13,09	20,25	7,1	7,6
IV	5860	„ 10 „ „ Vergl	2	83,88	2,98	1,86	7,16	76,30	63,26	13,04	23,70	7,4	8,4
V	5720	„ 78 „ „ „	0	81,20	2,83	1,91	9,46	76,55	60,55	16,00	23,45	7,0	7,9
VI	5640	„ 28 „ „ „	6	81,14	3,39	1,38	9,03	76,55	61,74	14,81	23,45	7,0	8,0
VII	5540	„ 26 „ „ .	1	76,54	2,83	1,13	11,29	77,20	64,40	12,80	22,80	7,1	7,7
VIII	5400	„ 24 „ „ .	0	81,65	2,78	1,33	9,24	71,30	61,17	10,13	28,70	6,6	7,3
IX	5260	„ 74 „ „ .	7	82,93	3,12	1,00	8,48	75,62	61,46	14,16	24,38	6,0	7,5
Hund Nr. 405 Tag	9540												
I	9120	Hunger, 82 ccm Wasser	9	87,91	3,25	0,00	6,45	61,54	53,85	7,69	38,46	4,2	8,9
II	8820	„ 82 „ „	0	87,50	3,28	0,00	7,42	75,55	70,15	5,40	24,45	6,6	8,3
III	8660	„ 94 „ „	7	88,53	3,20	0,00	6,70	71,70	67,70	4,00	28,30	6,1	9,9
IV	8360	„ 38 „ „ Ver	0	86,42	3,20	0,00	6,38	71,04	66,83	4,21	28,96	6,6	11,0
V	8080	„ 50 „ „	5	83,70	3,53	0,00	8,32	63,77	57,36	6,41	36,23	5,6	8,6
VI		„ kein „	0	80,40	1,66	0,00	13,74	58,47	53,85	4,62	41,53	5,4	—
		Exitus 6 Uhr abends.											
Hund Nr. 406 Tag	6880												
I	6580	Hunger, kein Wasser .	1	85,53	2,93	0,00	6,33	64,00	51,20	12,80	36,00	4,8	11,2
II	6360	„ „ „ .	0	78,35	3,96	0,00	10,69	64,56	53,54	11,02	35,44	6,4	7,0
III	6220	„ „ „ .	0	82,00	3,65	0,00	8,35	77,00	64,60	12,40	23,00	5,7	10,0
IV	5900	„ „ „ Verg	1	84,29	4,02	1,84	5,14	69,30	59,40	9,90	30,70	5,8	16,4
V	5640	„ „ „ „	9	70,24	3,20	2,52	16,95	70,90	59,30	11,60	29,10	4,0	9,2
VI	5600	„ 132 ccm „ „	3	79,87	3,02	3,02	7,76	75,00	65,63	9,37	25,00	5,8	8,9
VII	5400	„ 50 „ „ „	4	75,73	2,44	4,15	11,24	76,33	70,23	6,10	23,67	5,4	10,2
VIII	5360	„ 160 „ „ „	6	84,94	2,28	4,10	4,82	76,35	70,26	6,09	23,65	5,7	9,3
IX	5260	„ 62 „ „ .	0	82,00	2,31	2,51	7,18	73,62	68,68	4,94	26,38	7,0	9,3
X	5240	„ kein „ .	5	81,55	2,29	2,16	8,25	68,68	63,75	4,93	31,32	7,6	8,7

Reduzierende Substanzen fe

säurevergiftung in dem Verhältnis von gesamtschwefelsaurem und Alkalisulfat-Schwefel zum Gesamtschwefel. Unter dem Einflusse von Blausäure wird die oxydative Fähigkeit des Organismus für Cystinschwefel bedeutend beeinträchtigt, so daß die Verhältniszahlen während des Vergiftungsversuches fallen, um in der Nachperiode zu steigen. Dieses ist bei Kohlenoxydvergiftung nicht der Fall. Es findet sich in keinem der hier berichteten Experimente das geringste Anzeichen dafür, daß die Menge des in oxydierter Form ausgeschiedenen Schwefels geringer geworden ist. Es ist von Katsuyama[1]) behauptet, daß Kohlenoxyd die Menge des in Form von ätherschwefelsauren Salzen ausgeschiedenen Schwefels verringere. Denselben Schluß kann man auch aus diesen Untersuchungen ziehen.

Wir werden jedoch später beweisen können, daß die Menge der Ätherschwefelsäuren allein durch Hungern ebenso sehr wie in den hier ausgeführten Untersuchungen herabgesetzt werden kann, so daß wir in dieser Hinsicht geneigt sind, die Abnahme in der Ausscheidung dieser Schwefelfraktion hauptsächlich dem Hungern und nicht der Kohlenoxydwirkung zuzuschreiben.

Zusammenfassung.

Der Einfluß von Kohlenoxyd auf den Eiweißstoffwechsel gibt sich auf Grund der vollständigen Analyse von Stickstoff und Schwefel im Harn als eine Anomalie zu erkennen, welche man direkt dem Einflusse des Giftes zuzuschreiben hat. Die Menge des ausgeschiedenen Kreatins übersteigt deutlich die bei normalen hungernden Hunden gefundene. Aber dieser Befund ist nicht konstant, denn in dem zum Tode des Tieres führenden Versuche war kein Kreatin an irgendeiner Stelle der Untersuchung nachzuweisen.

[1]) Katsuyama, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 83, 1901.

Elektrische Überführung von Fermenten.

II. Trypsin und Pepsin.

Von

Leonor Michaelis.

(*Eingegangen am 26. Februar 1909.*)

Als zweites Beispiel, um die Wanderung eines Ferments im Stromgefälle zu studieren, wählte ich das Trypsin, welches sich bei der Adsorptionsanalyse als sicher amphoterer Natur erwiesen hatte. Es wurde der früher beschriebene Apparat angewendet, mit der schon in der ersten Mitteilung (Fußnote) erwähnten Modifikation, daß die Kathode aus Zn in $ZnSO_4$, die Anode aus Ag in ClNa bestand. Als Trypsin wurde „Pancreatinum absolutum" (Rhenania) benutzt, meist in $^1/_2$ $^0/_0$iger wässeriger Lösung, filtriert und unter Zusatz von wenigen Tropfen Xylol 24 Stunden gegen oft gewechseltes destilliertes Wasser in einer „Fischblase" dialysiert. Als Prüfungsmethode wurde die Caseinverdauung benutzt. Bei der Anordnung

Anode (Ag, ClNa)	destilliertes Wasser	Ferment	destilliertes Wasser	Kathode (Zn, $ZnSO_4$)

wanderte das Ferment stets nach der Anode.

Ein Beispiel mag genügen:

Stromdauer 24 Stunden.

Dann wird je 10 ccm Caseinlösung (ca. 1 $^0/_{00}$) mit 3 ccm Fermentlösung versetzt,

a) aus dem Anodengefäß,
b) aus dem Mittelgefäß,
c) aus dem Kathodengefäß.

Wasserbad von 40 °.

Casein ist verschwunden bei:

a) in 44 Minuten (Anode),
b) in 6 Minuten (Mitte),
c) überhaupt nicht (auch in anderen, extrem gehaltenen Mengenverhältnissen keine Verdauung).

Auch bei alkalischer Reaktion war die Wanderung stets rein anodisch. Anordnung z. B.:

Zn, $ZnSO_4$	1 ‰ Sodalösung	$^1/_2$ % Trypsin in 1 ‰ Sodalösung	1 ‰ Sodalösung	Ag, ClNa

Dagegen gelang es leicht, durch eine nicht zu gering bemessene Säuerung die Wanderungsrichtung total umzudrehen, z. B. bei der Anordnung:

Zn, $ZnSO_4$	Essigsäurelösung 1:200	$^1/_2$ %ige Trypsinlösung + $^1/_{100}$ Vol. Eisessig	Essigsäurelösung 1:200	Ag, ClNa

Hier und in ähnlichen Anordnungen war die Wanderung stets rein kathodisch. Der Neutralitätspunkt muß aber, um diese Umladung hervorzubringen, sehr erheblich nach der sauren Seite hin überschritten sein; bei der immerhin merklich sauren Reaktion des destillierten Wassers des Laboratoriums ist das Ferment noch anodisch. Durch Zusatz von etwas ClNa (0,075 n.) in der neutralen Trypsinlösung wurde die normale anodische Wanderungsrichtung nicht gestört.

Besondere Beachtung verdient die undialysierte Fermentlösung. Ohne weiteren Zusatz wandert diese nämlich zwar auch überwiegend anodisch, aber gleichzeitig in geringerem Grade auch kathodisch, was ich in zahlreichen Einzelversuchen immer wieder bestätigen konnte.

Die Ursache hierfür ist offenbar der Gehalt des Fermentpräparates an Elektrolyten. Es wird bei dieser Anordnung das reine Wasser in den Seitengefäßen auf eine Elektrolytlösung geschichtet, und bei einer solchen Anordnung sind Reaktionsverschiebungen durch den elektrischen Strom möglich, die dem Ferment an verschiedenen Stellen des Stromkreises verschiedene Ladung erteilen können. Um derartige Komplikationen auszuschließen, muß man den Elektrolytgehalt in allen Räumen stets annähernd gleich machen.

Jedenfalls folgt aus diesen Versuchen, daß das Trypsin eine amphotere Substanz ist, in Übereinstimmung mit den Resultaten der Adsorptionsanalyse. Es folgt ferner daraus, daß der elektronegative Charakter deutlich überwiegt.

Im teilweisen Gegensatz hierzu wandert Pepsin (P. in lamellis, Merck) in neutraler und sogar auch in stark saurer Lösung

Anode	$^{n}/_{50}$-HCl	4 % Pepsin in $^{n}/_{30}$-HCl	$^{n}/_{50}$-HCl	Kathode

rein anodisch. Das deckt sich wiederum mit der Adsorptionsanalyse, die ebenfalls einen stark negativen Charakter des Pepsins anzeigte. Nun ist das Pepsin, wenn auch nur in geringem Grade, auch durch negative, nicht mechanisch adsorbierende Adsorbenzien adsorbierbar. Ob es gelingen wird, auch durch elektrische Überführung bei geeigneten Bedingungen das Pepsin nach der Kathode zu führen, oder ob hier eine Inkongruenz zwischen Überführung und Adsorption vorliegt, erfordert eine weitere Untersuchung. Auf jeden Fall ist ein Gegensatz von Trypsin und Pepsin schon jetzt sicher erkennbar.

Über die Adsorption des Zuckers.

Von

P. Rona und L. Michaelis.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 26. Februar 1909.)

Mit 3 Figuren im Text.

In früheren Arbeiten haben wir gezeigt, daß die Eiweiß-adsorbierenden Mittel, wie Kaolin und Eisenhydroxyd, als Typen der elektronegativen und elektropositiven Adsorbenzien, Traubenzucker nicht adsorbieren, ebensowenig wie sie Aceton oder Essigsäure adsorbieren. Folgende Versuche mögen zunächst diese Tatsache, die bereits durch ein sehr reiches Versuchsmaterial gestützt ist, noch einmal bekräftigen:

Versuch 1.

100 ccm einer Zuckerlösung mit 0,53% Zucker werden mit 30 g Kaolin geschüttelt. Gefundene Drehung im Filtrat: 0,54%. — 100 ccm derselben Zuckerlösung werden mit 70 g Kaolin geschüttelt. Gefundene Drehung im Filtrat: 0,53%. — 50 ccm obiger Zuckerlösung werden mit 45 ccm Ferr. oxyd. dial. liquid. versetzt und mit einer Na_2SO_4-Lösung auf 100 ccm aufgefüllt. Gefundene Drehung im Filtrat 0,27 statt der berechneten 0,265°.

Wegen der besonderen physiologischen Bedeutung des Traubenzuckers studierten wir nun sein Verhalten unter verschiedenen Bedingungen genauer. Wir mußten uns zunächst fragen, wie der Traubenzucker sich an solchen Oberflächen verhält, die ein starkes mechanisches Adsorptionsvermögen haben. Es ist bekannt, daß gelöster Zucker beim Schütteln mit Kohle teilweise verschwindet. Daher ist auch die Klärung zuckerhaltigen Harnes mit Kohle durchaus zu verwerfen. Über

das Wesen dieser Erscheinung liegen jedoch exakte Untersuchungen, die auf die Theorie der Adsorption Rücksicht nehmen, noch nicht vor. Nicht einmal das läßt sich aus den vorhandenen Angaben mit Sicherheit entnehmen, ob es sich um eine echte Adsorption handelt. Viele organische Substanzen werden an der Oberfläche der Kohle chemisch verändert, wohl oxydiert, wie das neuerdings Freundlich[1]) z. B. für Phenylthioharnstoff, Oxalsäure[2]) u. a. gezeigt hat; bei diesen Stoffen ist das Studium der Adsorption daher sehr erschwert. Liegt bei Traubenzucker derselbe Fall einer langsamen Zerstörung vor, so müßte sich dies wie bei den entsprechenden anderen Substanzen darin äußern, daß die Reaktion zwischen Kohle und Zuckerlösung nicht in wenigen Minuten zu einem stationären Zustand, dem Adsorptionsgleichgewicht, führt, sondern im Laufe von Stunden und Tagen ständig weiter schreitet.

Zunächst mußte daher entschieden werden, ob der Zuckerverlust durch die Kohle auf einer Zerstörung oder auf echter Adsorption beruht. Theoretisch am einfachsten würde sich die Frage dadurch beantworten lassen, daß man die mit Zucker beladene Kohle mit genügenden Mengen Wasser auswäscht und die quantitative Ablösung des Zuckers durch das Waschwasser nachweist. Die Ausführung dieses Nachweises ist aber in Wirklichkeit mit Schwierigkeit verbunden, weil es sich um sehr geringe Zuckermengen handelt und die genügende Trennung der Kohle von der ersten zuckerhaltigen Lösung, aus der die Adsorption stattgefunden hat, sehr schwer ist. Aber auf andere Weise läßt sich der Nachweis doch erbringen. Zunächst kann gezeigt werden, daß die Zusammensetzung einer mit Kohle geschüttelten Zuckerlösung nach 3 Minuten genau die gleiche ist wie nach 24 Stunden.

100 ccm einer Zuckerlösung mit 0,488 % Zucker wurden 3 Minuten lang mit 1 g Kohle geschüttelt, ein Teil gleich abfiltriert. Die Drehung des Filtrates betrug 0,40°. Nach einer Stunde wurde wieder ein Teil abfiltriert; die Drehung betrug 0,40°. Nach 24 Stunden erhaltenes Filtrat drehte 0.40°.

Wenn die Kohle auf irgendeine Weise den Zucker zerstörte, so müßte diese Zerstörung nach 24 Stunden weitere Fortschritte

---

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 407.

[2]) Morton Masius, Über die Adsorption in Gemischen. Diss., Leipzig (unter Leitung von Freundlich) 1908.

gemacht haben als nach den ersten Minuten, wie es bei denjenigen Substanzen in der Tat der Fall ist, welche wirklich durch Kohle zerstört werden.

Ferner konnten wir zur Entscheidung unserer Frage die von uns früher beschriebene Erscheinung der gegenseitigen Verdrängung zweier adsorbierbarer Substanzen im Gemisch benutzen.[1]) Danach mußte es leicht gelingen, durch größere Mengen einer gut adsorbierbaren Substanz die ja nur geringfügige Adsorption des Zuckers ganz zu unterdrücken. In der Tat gelingt es leicht, durch Zugabe von Essigsäure oder Aceton die Adsorption des Zuckers vollständig zu verhindern.

Versuch 2.

Wurden 100 ccm einer Zuckerlösung, die 1,04% Zucker enthielt, mit 5 g Kohle geschüttelt, so enthielt das Filtrat nur 0,53% Zucker. Enthielt dieselbe Zuckerlösung bzw. 0,3, 3,0 und 15,0 ccm Aceton, so betrugen die nach dem Schütteln zurückgewonnenen Zuckermengen bzw. 0,64%, 0,97%, 1,06%.

Im letzten Falle wurde also gar kein Zucker mehr von der Kohle adsorbiert. Die durch Aceton bewirkte Erhöhung der spezifischen Drehung des Traubenzuckers[2]) übersteigt bei den angewandten Acetonkonzentrationen nicht die Fehlergrenzen der Bestimmung.

Enthielt dieselbe Zuckerlösung bzw. 0,2, 1,0, 10 ccm konz. Essigsäure, so enthielten die betreffenden Filtrate nach dem Schütteln mit 5 g Kohle bzw. 0,60%, 0,70%, 1,06% Zucker. Im letzten Falle wurde also aller Zucker wiedergewonnen.

Praktisch folgt daraus, daß man nach Zugabe von etwa 10% Essigsäure oder Aceton die Klärung schwach zuckerhaltiger Flüssigkeiten durch Kohle vornehmen kann, ohne einen Zuckerverlust befürchten zu müssen.

Im Gegensatz zu diesen Gemischen zweier „mechanisch adsorbierbarer“ Körper wiesen wir nun nach, daß es eine Gruppe von Stoffen gibt, die sich im Gemisch mit mechanisch adsorbierbaren Körpern ganz anders verhalten. Zu diesen Körpern

---

[1]) Dieses Phänomen wurde in der nur wenige Tage nach unserer Mitteilung erschienenen Dissertation von Morton Masius (l. c.) an anderen Beispielen in gleicher Weise gefunden.

[2]) Vgl. Pribram, Über den Einfluß der Gegenwart inaktiver Substanzen auf die polaristrobometrische Bestimmung des Traubenzuckers. Monatsh. f. Chem. 9, 395, 1889. H. Trey, Ein weiterer Beitrag zur Birotation der Glykose. Zeitschr. f. physikal. Chem. 22, 424, 1897.

gehören nach den bisherigen Erfahrungen die eiweißartigen Körper und viele Farbstoffe. Wir konnten z. B. zeigen, daß Aceton, welches durch Essigsäure bei der Adsorption stark verdrängt wird, durch eiweißartige Körper ganz unbeeinflußt bleibt, und daß es die Adsorption dieser Körper ebensowenig beeinflußt. Ganz dieselben Erscheinungen konnten wir am Zucker wiederfinden. Auch Traubenzucker wird durch Eiweiß von der Adsorption nicht verdrängt, sondern mit oder ohne Gegenwart von Eiweiß in gleicher Weise adsorbiert. Nebenbei gesagt, spricht auch diese Erscheinung gegen die oft geäußerte Annahme einer chemischen Beziehung von Zucker und Eiweiß in Lösung.

Versuch 3.

Wurden 200 ccm einer 2%igen Traubenzuckerlösung mit 10 g Kohle geschüttelt, so enthielt das Filtrat 1,42% Zucker; dieselbe Flüssigkeit mit 0,5% Eiweiß (Serumeiweiß) ebenso behandelt, lieferte ein Filtrat, welches nach Enteiweißung mit Kaolin 1,40% Zucker enthielt. — 200 ccm 1%ige Zuckerlösung mit 10 g Kohle behandelt, gab ohne Eiweiß ein Filtrat mit 0,62%, mit 0,5% Eiweiß ein Filtrat mit 0,63% Zucker. — 200 ccm 0,1%ige Zuckerlösung mit 10 g Tierkohle geschüttelt, gab ohne Eiweiß ein Filtrat mit 0,05%, mit 0,5% Eiweiß ein Filtrat mit 0,06% Zucker.

Es sind also alle Erscheinungen, die das Verschwinden des Zuckers durch die Kohle begleiten, vollkommen analog denen der mechanischen Adsorption, und es bleibt nur übrig, die quantitativen Erscheinungen näher zu verfolgen.

Tabelle.

Gesamtmenge des Traubenzuckers in Millimol a	Volumen in ccm v	Kohle in g m	Wiedergefundener Zucker in Millimol $a-x$	Adsorbierter Zucker in Millimol x
2,928	100	4,9940	1,422	1,506
5,900	100	4,9785	3,067	2,833
11,567	100	4,9837	7,139	4,428
28,69	100	5,2067	22,08	6,61
43,04	100	5,0098	35,75	7,29

$\log \frac{x}{m}$	$\log \frac{a-x}{v}$
— 0,5207	— 1,8471
— 0,2447	— 1,5134

— 0,0513	— 1,1464
+ 0,1038	— 0,6559
+ 0,1632	— 0,4468

$\frac{1}{n} = 0{,}62;$ $\alpha = 1{,}02$

$\log \frac{a}{v}$	$\log \left[\frac{v}{m} \cdot \log \frac{a}{a-x}\right]$ gefunden	berechnet
— 1,534	0,800	0,960
— 1,229	0,757	0,772
— 0,947	0,603	0,597
— 0,542	0,339	0,346
— 0,366	0,207	0,234

Fig. 1 stellt die „Konzentration" des adsorbierten Zuckers in der Kohle als Funktion der Konzentration in der Lösung dar. Die Form der Kurve entspricht der üblichen. Fig. 2 stellt die Beziehung dar

$$\frac{x}{m} = k \left(\frac{a-x}{v}\right)^{\frac{1}{p}}$$

und zwar sind die Logarithmen der entsprechenden Werte eingetragen, die bei anderen Adsorptionen angenähert erfüllte geradlinige Form dieser Kurve ist recht unvollkommen ausgesprochen, es ist eine starke Konkavität vorhanden. Fig. 3 stellt, in logarithmierter Form, die Freundlichsche Gleichung

$$\frac{v}{m} \ln \frac{a}{a-x} = \alpha \cdot \left[\frac{a}{v}\right]^{-\frac{1}{n}}$$

dar. Auch sie ist nicht streng geradlinig, sondern deutlich konkav, aber immerhin angenähert geradlinig, so daß es möglich war, die Werte der beiden Konstanten auf graphischem Wege zu ermitteln. Die mit Hilfe der angesetzten Konstanten berechneten Werte der linken Seite der Gleichung decken sich wenigstens im mittleren Teil der Kurve ganz gut mit den beobachteten. Es ist hier also der Freundlichschen Gleichung der Vorzug zu geben, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die Abweichungen von der geraden Linie bei dieser Glei-

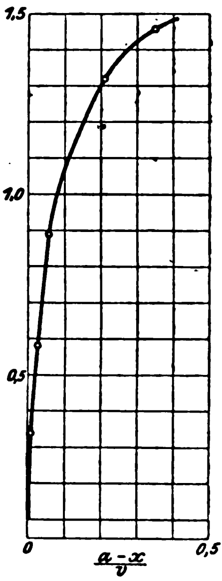


Fig. 1.

chung sich weniger ausprägen als bei der anderen. Die Unvollkommenheit beider Gleichungen, welche in weiteren Be-

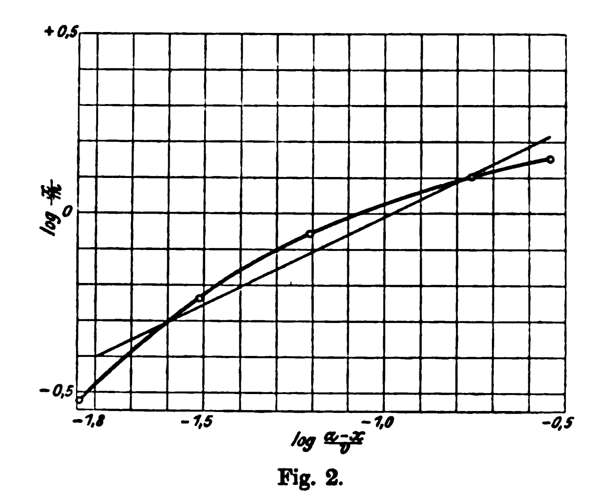


Fig. 2.

reichen auch bei anderen Substanzen die Regel ist, tritt hier besonders stark zutage, und das ist nicht verwunderlich, da die Gleichungen nur empirische Rechenformeln darstellen.

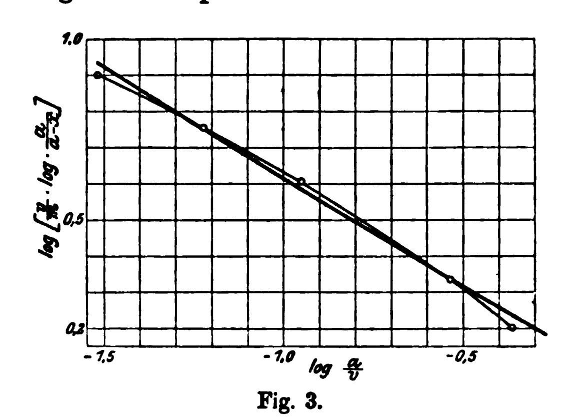


Fig. 3.

Außer dem Traubenzucker untersuchten wir **Rohrzucker**. Die Verhältnisse liegen hier genau wie beim Traubenzucker; die Adsorption ist noch etwas stärker. Auch die Verdrängungserscheinungen durch Aceton sind genau die gleichen; auch haben die mit Kohle geschüttelten Lösungen nach 10 Minuten genau denselben Zuckergehalt wie nach 24 Stunden, wodurch eine

Zerstörung des Rohrzuckers ausgeschlossen ist. Auch eine Inversion des Rohrzuckers durch Kohle, welche Freundlich[1]) in Analogie mit der von Rayman und Seele[2]) beobachteten Inversion des Rohrzuckers durch Platinschwarz als möglich hingestellt hat, kann man vollkommen ausschließen.[3])

Versuch 4.

80 ccm einer Rohrzuckerlösung, die im 2 dm-Rohr eine Drehung von 12,73° zeigte, gab nach dem Schütteln mit 5 g Kohle eine Drehung von 9,93°; eine Rohrzuckerlösung mit einer Drehung von 6,42° zeigte nach derselben Behandlung eine Drehung von 3,89°; eine Rohrzuckerlösung mit der Drehung von 1,26° zeigte nach derselben Behandlung eine Drehung von 0,14°.

Wurden 100 ccm einer Rohrzuckerlösung, die im 2 dm-Rohr eine Drehung von 1,25° zeigte, mit 5 g Kohle geschüttelt, so war die Drehung im Filtrate 0,13°; enthielt dieselbe Lösung bzw. 1,0, 2,5, 5 ccm Aceton, so war die Drehung in den zurückgewonnenen Flüssigkeiten bzw. 0,26°, 0,55°, 0,83°.

Stichproben bei diesen Versuchen, wie bei solchen mit Traubenzucker nach 24 Stunden, zeigten keinerlei Änderung der Drehung.

Abgesehen von diesen rein tatsächlichen Befunden, die für die Physiologie und ihre Methodik ein gewisses Interesse haben, bieten diese Erscheinungen aber noch ein höheres theoretisches Interesse. Nach der Theorie von Gibbs-Freundlich, die wir in unserer früheren Mitteilung entwickelten, darf ein Stoff in wässeriger Lösung nur dann adsorbierbar sein, wenn er die Oberflächenspannung des Wassers herabsetzt. Zweifellos trifft dies in den meisten Fällen zu, und ein Stoff wird im allgemeinen um so besser adsorbiert, je stärker sein erniedrigender Einfluß auf die Oberflächenspannung ist. Für Trauben- und Rohrzucker trifft die Theorie aber nicht zu, denn sie erniedrigen die Oberflächenspannung des Wassers nicht und werden doch adsorbiert.

Messungen über die Oberflächenspannungen von Zucker sind von mehreren Autoren ausgeführt worden. Danach gehören die Zucker zu denjenigen (nicht sehr zahlreichen) Substanzen, welche so gut wie gar keinen Einfluß auf die Oberflächen-

---

[1]) Freundlich, l. c. S. 407, Fußnote.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 21, 481, 1896.

[3]) Auch enthalten die Lösungen keinen reduzierenden Invertzucker.

spannung des Wassers haben; der sehr minimal vorhandene Einfluß ist im Gegenteil eine Erhöhung der Oberflächenspannung. Eigene Versuche bestätigen das.

So ist, nach den Angaben von J. Traube[1]) berechnet, die Oberflächenspannung von Rohrzuckerlösungen, die des Wassers = 1 gesetzt, folgende:

Prozentgehalt	Oberflächenspannung
0	1
4,2	1,007
7,2	1,01

Nach eigenen Versuchen ergab sich die Oberflächenspannung (nach der Steighöhenmethode) für Traubenzucker, die des Wassers = 1 gesetzt, zu (bei 20°)

Prozentgehalt	Oberflächenspannung
0	1,000
10	1,014
20	1,039

(während die Oberflächenspannung einer 5%igen wässerigen Lösung von Alkohol = 0,818 war).

Diese relativen Bestimmungen der Oberflächenspannung wurden in folgender Weise ausgeführt. Zwei Thermometercapillaren von ca. 0,8 und 0,4 mm Durchmesser mit eingeätzter Millimeterteilung wurden nach Reinigung mit Bichromat und Schwefelsäure zunächst an der Saugpumpe mit Wasser gründlichst gewaschen und die Niveaudifferenz Δ_w des in die lotrecht montierten Röhren capillar aufsteigenden Wassers gemessen; dann wurden dieselben Capillaren an der Pumpe mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gewaschen und in ähnlicher Weise die Niveaudifferenz Δ_x der capillar gestiegenen zu untersuchenden Flüssigkeit in mehreren Versuchen bestimmt. Ist D das spezifische Gewicht dieser Flüssigkeit, so ist die relative Oberflächenspannung σ

$$\sigma = \frac{\Delta_x \cdot D}{\Delta_w}$$

Die Beobachtungen wurden bei Zimmertemperatur von 20° gemacht.

[1]) J. Traube, Theorie der Osmose und Narkose. Pflügers Archiv 105, 541. Die Zahlen sind aus dem Diagramm, daselbst S. 544, berechnet und sind nur angenähert. Die Zahlen der Originalmessung von J. Traube haben wir nicht auffinden können. Es kommt aber hier auch nicht auf die genauen absoluten Werte an, sondern nur auf die Tatsache, daß die Oberflächenspannung durch Zucker ein wenig erhöht, keinesfalls erniedrigt wird.

Wir möchten diese einfache Methode der relativen Messung der Oberflächenspannung empfehlen, weil sie die Niveaubestimmung des äußeren Flüssigkeitsspiegels umgeht. Δ_w betrug für unsere Röhren 35,1 mm, also ein hinreichend großer Wert, um kleine Änderungen erkennen zu lassen.

Aber man muß bedenken, daß wir mit allen unseren Methoden immer nur die Oberflächenspannung der Lösungen gegen Luft (bzw. ihren Dampf) messen. Es ist vielleicht möglich, daß die Spannung der Grenzfläche Wasser—Kohle durch Zucker herabgesetzt wird. Experimentell können wir bisher die Grenzflächenspannung einer Flüssigkeit gegen Kohle nicht feststellen, und diese empfindliche Lücke unserer Kenntnisse, auf die auch von anderen schon hingewiesen worden ist, macht sich hier sehr bemerkbar.

Es ist aber noch eine andere Erklärung möglich. Die Ursache für die mechanische Adsorption kann in drei Momenten gefunden werden:

1. Ein Stoff wird adsorbiert, wenn er die Oberflächenspannung des Lösungsmittel herabsetzt (Gibbs, Freundlich).

2. Ein Stoff wird adsorbiert, wenn er die Kompressibilität des Lösungsmittels erhöht, weil er dann durch die Anreicherung in der Oberfläche eine Druckentlastung der komprimierten Flüssigkeitsoberfläche schafft (Freundlich).

3. Ein Stoff wird adsorbiert, wenn er durch Erhöhung des Druckes löslicher wird (Lagergreen); alsdann muß er sich in der unter Druck stehenden Oberflächenschicht anreichern.

Es scheint nun, daß diese drei Eigenschaften eines Stoffes: die Oberflächenspannung herabzusetzen, die Kompressibilität der Flüssigkeit zu erhöhen und unter Druck an Löslichkeit zu gewinnen, oft bei einem Stoff gleichzeitig und gleichsinnig vorhanden sind.[1]) Aber es ist gar nicht erwiesen und wird auch wohl nicht behauptet, daß das immer und für alle Stoffe so ist, und es ist durchaus denkbar, daß z. B. der Zucker, der die Oberflächenspannung nicht herabsetzt, doch unter Druck

---

[1]) A. Ritzel, Gaslöslichkeit, Kompressibilität und Oberflächenspannung. Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 319, 1907. Hier ist zum erstenmal der Versuch gemacht, die Kompressibilität einer Flüssigkeit in Zusammenhang mit ihrem Lösungsvermögen zu bringen, aber zunächst nur für Gase und elektroindifferente organische Körper und keineswegs für Ionen.

löslicher wird. Dann ist eine zureichende Ursache für seine Adsorption gegeben. Der experimentelle Beleg für eine solche Annahme steht noch aus.

Es ist jedenfalls nicht genügend, wie sich hieraus ergibt, die mechanische Oberflächenadsorption allein aus der Eigenschaft eines Stoffes zu erklären, die Oberflächenspannung zu erniedrigen, sondern die beiden andern, vielleicht noch andere, bisher nicht bekannte, Momente müssen mit berücksichtigt werden.

Autorenverzeichnis.



